Lane Medical Library

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität
Freiburg i. Br.
Direktor: Professor Dr. K. Trautwein

STANFORD UNIVERSITY
JUL
25
1939
LIBRARY

# Beitrag zur Frage der Tuberkelbakteriaemie

Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär=medizinischen Fakultät
der Hessischen Ludwigs=Universität
zu Gießen

Vorgelegt von
**Elmar Weber**
aus Ettlingen i. Baden

Gießen
1939

Druck: Buchdruckerei Emil Wild, Endingen am Kaiserstuhl

Gedruckt mit Genehmigung
der Veterinär-medizinischen Fakultät
zu Gießen

Referenten: Prof. Dr. K. Trautwein, Freiburg i. Br
Prof. Dr. K. Beller, Gießen

Meinen lieben Eltern gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154004_0315

# Inhaltsverzeichnis.


| | Seite |
|---|---|
| I. Einleitung | 7 |
| II. Schrifttum | 8 |
| III. Eigene Untersuchungen | 17 |
| A. Methodik und Technik | |
| 1. Entnahme des Untersuchungsmaterials | 17 |
| 2. Vorbereitung der Blutproben für die Verimpfung | 18 |
| 3. Herstellung der Nährböden | 19 |
| 4. Anlegen und Untersuchung der Kulturen | 21 |
| B. Verlauf der Versuche | |
| 1. Vorversuche | 23 |
| 2. Hauptversuche a) mit Meerschweinchenblut | 31 |
| b) mit Rinderblut | 33 |
| C. Besprechung der Ergebnisse | 40 |
| IV. Zusammenfassung | 43 |
| V. Schriftverzeichnis | 44 |
| VI. Lebenslauf | 48 |

## I. Einleitung.

Bei vielen Infektionskrankheiten gelingt es, während des Ablaufs der Infektion den Erreger in einem gewissen Zeitpunkt vorübergehend oder auch wiederholt in geringerer oder größerer Menge in der Blutbahn nachzuweisen. Wenn lediglich ein gelegentliches Kreisen der Infektionskeime im Blute, also eine sogenannte Bakteriaemie vorliegt, ist der Nachweis unter Umständen unsicher und schwierig, während bei septikämischem Verlauf die Infektionserreger in der Blutbahn zur Vermehrung kommen und deshalb sicherer und leichter darin festzustellen sind. Die neueren Untersuchungen haben erwiesen, daß die Infektionserreger im Gegensatz zu den früheren Anschauungen vielfach sehr frühzeitig, nicht selten schon wenige Stunden nach erfolgter Ansteckung vom Aufnahmeorgan aus in den Blutkreislauf gelangen, aus dem sie allerdings häufig nach kurzer Zeit auch wieder verschwinden, um entweder vernichtet zu werden, oder in den Organen zur Ablagerung zu kommen; hierdurch wird die Allgemeinerkrankung oder Generalisation hervorgerufen.

Es wird seit langem angenommen, daß die hämatogene Verbreitungsweise bei der Tuberkulose eine bevorzugte Rolle spielt und namentlich die sogenannte Miliartuberkulose wie auch andere Generalisationsformen dieser Erkrankung zur Folge hat. Hinzutritt bei der Tuberkuloseerkrankung die Kombination zwischen lymphogener und hämatogener Ausbreitungsweise, und es ist daher zu erwarten, daß in vielen Abschnitten des Krankheitsablaufs mit gelegentlicher, wenn auch selten nachweisbarer Einschwemmung von Tuberkelbakterien in den Kreislauf gerechnet werden darf.

Darüber hinaus haben während der letzten Jahre die Angaben Löwensteins und seiner Mitarbeiter Aufsehen erregt, wonach die tuberkulöse Bakteriaemie nicht nur ein gelegentlicher, sondern bei systematischer Untersuchung ein sehr häufiger Befund namentlich bei Lungentuberkulose sei, und daß sie außerdem sogar bei Erkrankungen nicht tuberkulöser Natur nicht selten festgestellt werde. Löwenstein berichtet über derartige Befunde bei Chorea, Schizophrenie, bei sympathischer Ophthalmie, Dementia praecox, multipler Sklerose, akuter Polyarthritis usw.

Diese Angaben sind inzwischen in einer Unzahl von Veröffentlichungen nachgeprüft und für die Tuberkulose teilweise bestätigt, für die Krankheiten nicht tuberkulöser Natur zum größten Teil aber abgelehnt worden. Trotz dieser Fülle der darauf verwendeten Arbeit kam es bis heute zu keiner einwandfreien Klärung der Frage über die Häufigkeit der Tuberkelbakteriaemie. Die weit auseinander gehenden Befunde werden teilweise mit Schwierigkeiten und Unsicherheiten der Technik erklärt. Weitere Untersuchungen mit einwandfreier Technik und Methodik sind deshalb auch von tierärztlicher Seite gerechtfertigt, zumal der ganz überwiegende Anteil der bisherigen Veröffentlichungen von Menschenärzten stammt. Auch ist in den wenigen tierärztlichen Veröffentlichungen das von Löwenstein behauptete Vorkommen der Tuberkelbakteriaemie bei nicht tuberkulösen Erkrankungen nicht berücksichtigt. Die Bearbeitung der Frage besitzt für die tierärztliche Wissenschaft nicht nur theoretisches, sondern im Hinblick auf Seuchenbekämpfung und Fleischhygiene auch erhebliches praktisches Interesse.*)

## II. Schrifttum.

Villemin (72) hat schon frühzeitig den ansteckenden Charakter der Tuberkulose betont und bereits im Jahre 1868 auf Grund seiner Uebertragungsversuche auf Kaninchen die Ansicht vertreten, daß das Fortschreiten der Infektion im Organismus nur auf dem Blutwege stattfinden könne, und somit der Erreger auch im kreisenden Blute vorhanden sein müsse.

Die ersten experimentellen Untersuchungen zum Nachweis der Tuberkelbakterien im Blute wurden von Weichselbaum mit Hilfe der mikroskopischen Feststellung bereits im Jahre 1884 mit Leichenblut durchgeführt. Der Nachweis ist bei Miliartuberkulose, nicht aber bei chronischer Allgemeintuberkulose, gelungen. Ueber einzelne positive Befunde im Leichenblut berichten ferner Meisel (41) und Lustig (40), während Rütimeyer (57) und Sticker (65) die Erreger intravital nachweisen konnten.

---

* Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden bereits vor $1^1/_2$ Jahren abgeschlossen. Aus äußeren Gründen konnte ich die Dissertation erst jetzt vorlegen.

Neben der Methodik des einfachen Blutausstriches ging man späterhin zur mikroskopischen Untersuchung des angereicherten Materials über. Zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang namentlich das Verfahren von Sträuble-Schnitter (63), wobei eine Homogenisierung des Blutes durch Anwendung der Antiforminmethode angestrebt wurde. Die auf diesem Verfahren beruhenden Mitteilungen sind sehr widerspruchsvoll. 100%igen positiven Befunden (Kennerknecht, Kurashige (29), Rosenberg (54), Suzuki & Takati (67) u. a.) standen die negativen Ergebnisse anderer Autoren gegenüber. Die Methode wird von Bacmeister und Rüben (1) mit dem Hinweis abgelehnt, daß sie bei ihren Untersuchungen in allen Fällen Gebilde im Blute nachweisen konnten, die typischen säurefesten Bakterien völlig gleichen, daß die Befunde jedoch nicht nur im Blute tuberkulös erkrankter, sondern auch im Blute sicher nicht tuberkulöser Kaninchen erhoben wurden. Die Identität der gefundenen Gebilde mit Tuberkelbakterien wird von ihnen deshalb abgelehnt.

Von veterinärmedizinischer Seite ist die Frage durch Broll (5) bearbeitet worden, der bei 2 Kühen mit beginnender offener Tuberkulose das Blut auf Tuberkelbakterien untersuchte. Er fand in beiden Fällen säurefeste Stäbchen im mikroskopischen Präparat.

Die Methode des mikroskopischen Tuberkelbakteriennachweises wurde, nachdem ihre Schwächen und Fehlerquellen erkannt waren, verlassen; an ihre Stelle trat der Tierversuch. Villemin (72) und später Baumgarten (2) hatten das Tierexperiment schon früher herangezogen, es wurde jedoch erst im Jahre 1906 durch Lüdke systematisch zum Nachweis des Erregers in der Blutbahn angewandt. Das Blut wurde aus der Armvene entnommen und in der Menge von 5—10 ccm sofort intraabdominal auf Meerschweinchen verimpft, die zuvor auf die Tuberkulinprobe negativ reagiert hatten. Der Nachweis der Tuberkelbakterien ist Lüdke (39) zweimal bei Miliartuberkulose und in 3 von 14 untersuchten Fällen bei hochgradiger Lungentuberkulose gelungen. Ueber positiv verlaufene Untersuchungen unter Anwendung des Tierversuchs ist ferner von Fränkel (17), Meisel (41), Sticker (65), Lustig (40) und Rütimeyer (57) berichtet worden, während Querner (50) bei 36 Uebertragungsversuchen keinen einzigen positiven Befund erheben konnte.

Auf Grund der positiven Ergebnisse vieler Autoren galt der Tierversuch lange Zeit als die einzig zuverlässige Methode zum Nachweis der Tuberkelbakterien im Blute, wie er auch ganz allgemein bis in die neueste Zeit als das zuverlässigste diagnostische Verfahren angesehen wurde. Die bakteriologischen Methoden vermochten sich demgegenüber zunächst nicht durchzusetzen; die Reinzüchtung der Tuberkelbakterien galt früher als eine der schwierigsten Aufgaben in der bakteriologischen Untersuchungstechnik. Trotzdem haben sich bereits um die Jahrhundertwende sowie namentlich in der Folge eine Anzahl Autoren für die Tuberkelbakterienfeststellung mittels der Kultur nachhaltig eingesetzt. (Dorset (18), Lubenau (18), Löwenstein (30—38), Sumiyoshi (66), Hohn (20, 21), Petragnani, Besredka u. a.). In der Veterinärmedizin haben besonders die Methoden von Besredka (4) und Petragnani (18) in den letzten Jahren steigend Eingang gefunden. Zu nennen sind namentlich die Arbeiten von Sickmüller (61), Wolters (74), Dehmel (13), Graf (18), Rupp (58), Rudert (56) und von Trautwein (70) und Witte (73). Sowohl für die Zwecke wissenschaftlicher Untersuchungen als auch zur Diagnosestellung im Rahmen des freiwilligen Tuberkulosebekämpfungsverfahrens wird die Tuberkelbakterienkultur in manchen Instituten heute in großem Umfang angewandt.

Seit dem Jahre 1905 hat sich Löwenstein besonders eingehend mit dem kulturellen Nachweis von Tuberkelbakterien im Blute befaßt. Die Mitteilungen über seine Ergebnisse lauteten so auffallend günstig, daß die allgemeine Aufmerksamkeit sowohl speziell auf die Frage des Tuberkelbakteriennachweises im Blute als auch auf die Frage der diagnostischen Verwendbarkeit des Kulturversuchs gelenkt wurde.

Als ausschlaggebend für den Erfolg bezeichnete Löwenstein den Gebrauch eines zweckmäßig zusammengesetzten Nährbodens. Sein Nährboden wird wie folgt bereitet: 1 g Monokaliumphosphat einfach sauer, 1 g zitronensaures Natrium, 1 g Magnesium sulfuricum, 3 g Asparagin, 60 g Glyzerin, 1000 g Aqua dest. Zu je 150 ccm dieser Asparaginlösung gibt man 6 g Kartoffelmehl und 12 ccm Glyzerin, kocht das Ganze unter öfterem Umschütteln $^1/_4$ Stunde und läßt es (zur Dextrinbildung) ungefähr 1 Stunde bei 56° C stehen. Dieser Mischung werden dann 4 Eier und 1 Dotter,

die mit Glasperlen kräftig geschüttelt und mit 5 ccm einer 2%igen sterilen Malachitgrünlösung oder Kongorotlösung versetzt waren, zugefügt. Dann filtriert man durch strerile Gaze, füllt in sterile Röhrchen ab und erhitzt im Erstarrungsschrank zweimal an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Stunden bei 80—85° C.

Löwenstein und seine Mitarbeiter haben eine besondere Technik für die Vorbereitung der Blutproben zum Zwecke der Verimpfung ausgearbeitet, wobei jedoch verschiedentlich Aenderungen vorgenommen wurden. Die zuerst angegebene Methode ist folgende: „10 ccm Blut werden mit ungefähr 10 ccm 5%iger Essigsäure durch 5 Minuten behandelt, dann wird scharf zentrifugiert, die Essigsäure abgegossen, mit sterilem destilliertem Wasser gewaschen, dekantiert. Falls der Bodensatz bereits seine rote Farbe verloren und eine graue Farbe angenommen hat, erübrigt sich eine zweite Waschung. Das Hämoglobin muß entfernt werden, da es durch seine Sauerstoffbindungsfähigkeit das Wachstum stört. Dann wird das Sediment in der Menge von 0,5—1,0 ccm mittels dünner steriler Glasröhrchen oder weitmauliger Pipetten auf jeweils 4 Nährbodenröhrchen verteilt. Es ist natürlich angezeigt, das ganze Sediment jedes einzelnen Falles auf die Nährböden zu bringen. Jedenfalls soll das Sediment vor der Entnahme aufgeschüttelt werden, damit wirklich der Bodensatz verwendet wird. Hiernach werden sämtliche Röhrchen horizontal bei 37° gelegt, um eine möglichst große Oberfläche zu gewinnen und zu verhüten, daß das eingebrachte Material unten zusammensackt. Sorgfältiges Siegeln der Eprouvetten sofort nach dem Impfen. Ist die Sterilität nicht sicher, wird noch eine zweite Serie angelegt, in der der Rest des Sediments mit 15%iger Schwefelsäure durch 10 Minuten verrührt wird, dann zentrifugieren und waschen wie oben."

Von Busson (6 -9) ist zur Hämolyse des Blutes anstelle des destillierten Wassers 2%ige Saponinlösung empfohlen worden, die von Löwenstein zunächst übernommen wurde. Auch hat er eine Zeit lang das Waschen der roten Blutkörperchen mit 1%iger steriler Kalilauge empfohlen. Zuletzt jedoch ist er wieder zu der ursprünglichen Technik zurückgekehrt.

Löwenstein hält es für entscheidend, für die Beurteilung des Ergebnisses nicht lediglich den makroskopischen Befund, sondern vor allem auch die mikroskopische Unter-

suchung der Nährböden heranzuziehen. 8 Wochen nach der Verimpfung des Materials ist jedes einzelne Röhrchen unter Färbung der Ausstriche nach Ziehl-Neelson mikroskopisch zu untersuchen. Man findet dann multiple kleine Kolonien säurefester Stäbchen, die in der Subkultur ein reichlicheres Wachstum innerhalb der üblichen Zeit ergeben.

Nach den Mitteilungen Löwensteins hat er mit seiner Methode bei allen Formen der Tuberkulose auch bei Fieberfreiheit der Patienten und bestem Wohlbefinden in Massenuntersuchungen bis 100 % positive Ergebnisse erzielt. Auf Grund dieser in die Tausende gehenden Untersuchungen vertritt Löwenstein die Ansicht vom häufigen und symptomlosen Kreisen der Tuberkelbakterien in der Blutbahn. Wie bereits erwähnt, hat er darüber hinaus ähnliche positive Befunde auch bei nicht tuberkulösen, sondern anderweitig erkrankten Individuen erhoben.

Seine Ergebnisse wurden zunächst von seinem Schüler Sumiyoshi (66), sodann von den griechischen Autoren Bensis, Mouttoussis und Gouttas (3) weitgehend bestätigt. Ueber positive Befunde beim Menschen wird aber auch von anderen Autoren berichtet (Kren (27), Küster & Olbrich (28), Deist (14), Courmont (11) usw.). Ueber Mißerfolge unter z. T. scharfer Kritik der positiven Berichte haben demgegenüber eine noch größere Anzahl Autoren Mitteilung gemacht, von denen ich besonders nenne: Debré, Saenz & Proca (12), Tiedemann (68), Seiffert (60), Van der Hoeden (19), Koch (24), Rosetti (55), Coronini (10), Rimpau (53) u. a.

Zur Erklärung der voneinander abweichenden Befunde wird vielfach in erster Linie die Verwechslung säurefester, saprophytärer Bakterien herangezogen, die vor allem aus den zur Vorbehandlung des Materials benützten Flüssigkeiten stammen sollen. Besonders Saenz (59) zeigte, daß säurefeste Saprophyten an Gebrauchsgegenständen wie Gummipfropfen, Glasgefässen, Reinigungstüchern und vor allem im Wasser sowie an den Wasserhähnen vorkommen. Von Seiffert (60) sowie von Ekhard (16) wurde auf die Tatsache hingewiesen, daß die von ihnen selbst sowie parallel im Institut von Löwenstein vorgenommenen Untersuchungen weitgehende Differenzen der Ergebnisse bei ein und denselben Blutproben zeitigten. In der Regel wurden im Löwenstein'schen Institut bedeutend mehr posi-

tive Befunde erzielt. Eine Uebereinstimmung der positiven Befunde bei beiden Untersuchern gehörte zu den Ausnahmen.

Coronini (10) bezeichnete als besondere Fehlerquellen der Methode, daß sie sowohl vom Personal als auch von der stets gleichmäßigen, durch die gleiche Hand vorgenommenen Zubereitung der Nährböden weitgehend abhängig sei. Auch habe die Entnahme der Blutproben von fachkundiger Hand zur richtigen Zeit und bei ein und demselben Patienten mehrmals zu erfolgen. Schließlich seien im lebenden Blut Kräfte vorhanden, die das Wachstum der Kulturen hemmen.

Rimpau (53) lehnt auf Grund seiner experimentellen Ergebnisse vor allem die Behauptung Löwensteins vom Vorkommen der Tuberkelbakteriaemie bei Schizophrenie, Chorea, Rheumatismus usw. ab.

Von Kovacs (26) ist in neuerer Zeit eine Verbesserung der Technik angestrebt worden. Er verwertet dabei die Anreicherung der Tuberkelbakterien aus dem Blute mittels Adsorption an Tierkohle. Seine von ihm in Modellversuchen erprobte Abänderung der Löwenstein'schen Methode besteht darin, daß zu den aus dem Zitratblut auszentrifugierten Erythrozyten die dreifache Menge 0,2%iger Saponinlösung, die gleichzeitig 0,75% Merck'sche Tierkohle enthält, hinzugefügt wird. Der Inhalt des Zentrifugenröhrchens wird mit Glasperlen geschüttelt und verbleibt 15 Minuten bei Zimmertemperatur, worauf die überstehende Flüssigkeit abzentrifugiert und mittels einer Absaugevorrichtung sauber abgesaugt wird. Nach Hinzufügen von 1–2 ccm destilliertem Wasser wird nochmals gründlich durchgeschüttelt und nach Auffüllen des Röhrchens mit destilliertem Wasser wird zentrifugiert. Das Waschen wird zweimal wiederholt, bevor die Verimpfung des Materials auf Löwenstein-Nährböden erfolgt.

In seinen Vergleichsversuchen hatte Kovacs mit der Adsorptionsmethode bessere Ergebnisse als mit dem Verfahren nach Löwenstein.

Die Wiedergabe der weiteren, über diese Frage erschienenen Literatur würde zu weit führen. Im ganzen ist der ablehnende Standpunkt gegenüber den Behauptungen Löwensteins heute vorherrschend.

Die beim Menschen gefundenen Ergebnisse wurden vor allem bei tuberkulösen Versuchstieren der Nachprüfung

unterzogen, während Veröffentlichungen über Versuche mit größeren Haustieren von tierärztlicher Seite bisher verhältnismäßig spärlich vorliegen.

Zunächst berichteten Richters (52) sowie Räbiger (51), daß es ihnen in 3 Fällen gelungen ist, im strömenden Blut von Hühnern Tuberkelbakterien kulturell nachzuweisen. Silberschmidt (62) fand im Blute von 7 Hühnern, die unter 25 Tieren bei der Kehllappenprobe positiv reagierten, Tuberkelbakterien auf kulturellem Wege. Bei 9 an Tuberkulose verendeten Hühnern wurden in jedem Falle Tuberkelbakterien im Blute nachgewiesen. Bei letzteren Tieren waren die Kolonien im Durchschnitt nach 17 Tagen, in den erstgenannten Fällen nach 23 Tagen sichtbar.

Die meisten Untersuchungen wurden naturgemäß mit Meerschweinchen sowie mit Kaninchen vorgenommen. Proca (49) fand bei gestorbenen tuberkulösen Meerschweinchen in 5 von 12 Fällen Tuberkelbakterien im Herzblut. Dagegen hatte die Verimpfung des Blutes lebender tuberkulöser Meerschweinchen nur in einem von 10 Fällen ein positives Resultat.

Küster & Olbrich (28) erzielten bei ihren Züchtungsversuchen zur Nachprüfung der Löwenstein'schen Methode aus dem Blute von 65 tuberkulösen Meerschweinchen 24,6 % und von 26 Kaninchen 26,9 %, bei mehrmaliger Untersuchung sogar 46,2 % positive Kulturen.

Kolle & Küster (25) ist der Nachweis von Tuberkelbakterien im Blute von Meerschweinchen in den späten Stadien der experimentellen Infektion zu etwa 50 % gelungen.

Strempel (64) sowie Kalbfleisch (22) konnten aus dem Blute tuberkulöser Meerschweinchen nur vereinzelt Tuberkelbakterien herauszüchten.

Seiffert (60) hatte Meerschweinchen teils per os, teils subkutan infiziert, er fand bei 75 Tieren mittels der Kultur 3 mal makroskopisch und 5 mal mikroskopisch säurefeste Bakterien im Blute. Der mikroskopische Nachweis der Stäbchen ist ihm jedoch für die Feststellung ihrer Uebereinstimmung mit Tuberkelbakterien nicht beweisend.

Van Oyen (48) hatte gleichfalls positive Ergebnisse. Der kulturelle Nachweis der Erreger ist ihm aus dem Herzblut von Versuchstieren gelungen, die an experimenteller Tuberkulose eingegangen waren. Auf Grund seiner Parallelversuche ist er der Ansicht, daß die Löwenstein'sche

Kulturmethode ebenso empfindlich wie der Meerschweinchenversuch ist.

Verschiedene Autoren experimentierten mit Hunden. Tomescu (69) konnte in den Blutkulturen von 21 tuberkulösen Hunden, die er intravenös und oral infiziert hatte, angeblich mit einer Ausnahme in allen Fällen innerhalb 15—60 Tagen nach der Verimpfung mikroskopisch Tuberkelbakterien nachweisen. Kulturen aus Kadaverblut zeigten auch makroskopisches Wachstum. Dagegen gelang es Verge & Sergent (71) nicht, bei 6 tuberkulösen Hunden nach der Methode von Löwenstein Tuberkelbakterien im Blute festzustellen.

In den Versuchen von Eidherr (15) waren die Blutkulturen von je 4 mit bovinen Stämmen intraabdominal infizierten Kaninchen und Meerschweinchen in je 3 Fällen positiv. Auch im Blute von 3 tuberkulösen Halbaffen konnte er die Tuberkelbakterien kulturell nachweisen. Eidherr (15) hat ferner über Untersuchungen an 26 klinisch tuberkulös erscheinenden Schlachtrindern berichtet. Das Blut wurde aus der Vena jugularis entnommen und nach der bei Löwenstein erlernten Methode bearbeitet. In 3 Fällen von Lungentuberkulose bezw. Eutertuberkulose wurden 2 Monate nach der Verimpfung positive Kulturen mit makroskopischem Wachstum erzielt.

Van Oyen (48) ist es gelungen, bei einer eutertuberkulösen Kuh nach Entnahme der Blutprobe aus der Eutervene Tuberkelbakterien heraus zu züchten.

Umfangreiche Untersuchungen an Rindern mit klinisch festgestellter Tuberkulose haben Meyn, Breusch und Weiske (43) angestellt. Sie bedienten sich der Methode Löwensteins mit einer Anzahl Abänderungen. Etwa 20 ccm Blut wurden mit je 10 ccm einer 10%igen Natriumzitratlösung gut vermischt und sodann auf 2 Zentrifugenröhrchen verteilt. Nach dem Zentrifugieren wurde das überschüssige Plasma abgegossen, das Sediment mit sterilem destillierten Wasser auf 30 ccm aufgefüllt, gut durchgerührt, und erneut zentrifugiert. Nach Abgießen der Flüssigkeit wurde der Bodensatz des einen Röhrchens mit ungefähr der gleichen Menge 15%iger Schwefelsäure verrührt, mit destilliertem Wasser auf 30 ccm aufgefüllt, geschüttelt und erneut 20 Minuten zentrifugiert. Nach nochmaligem Waschen mit destilliertem Wasser zur vollständigen Entfernung der

Schwefelsäure kam dann der Bodensatz zur Verimpfung. Das Sediment des zweiten Zentrifugenröhrchens wurde nach der von Löwenstein empfohlenen Methode mit etwa 20 ccm 10%iger Salzsäure verrieben, zentrifugiert und nach Abgießen des Ueberstehenden ohne Waschen direkt verimpft. Der Eiernährboden nach Petragnani hat sich den Autoren besser bewährt als der Nährboden von Löwenstein und von Feldmann. Bei der Vorbehandlung des Blutes geben sie der Salzsäuremethode sowohl aus Gründen der Einfachheit als auch des besseren Wachstums der Kulturen den Vorzug.

Meyn und Mitarbeiter erzielten bei 150 untersuchten Blutproben 5 mal (= 3,3%) positive Befunde. Makroskopisch sichtbare Kolonien waren erst nach dem 40. Tage festzustellen. Die Identität der gefundenen Keime mit Tuberkelbakterien wurde durch die Uebertragung auf Meerschweinchen, die anschließend an Tuberkulose erkrankt sind, gesichert. Die Autoren halten diese Sicherung für unbedingt erforderlich. Bei dem untersuchten Material handelte es sich in fast allen Fällen um Rinder mit starker Ausbreitung der Tuberkulose in sämtlichen Organen und serösen Häuten.

Während meine eigenen Untersuchungen im Gange waren, hat Meyn (42) über weitere Ergebnisse berichtet. Er hat im Blute von Rindern mit ganz bestimmtem pathologisch-anatomischen Tuberkulosebefund bei 14 untersuchten Fällen 9 mal Tuberkelbakterien kulturell nachweisen können.

Meyn hat seine Untersuchungen in Zusammenarbeit mit Nieberle (44—47) durchgeführt. Die beiden Autoren haben weitgehende Klarheit darüber geschaffen, daß wir unterscheiden müssen zwischen dem gelegentlichen, bei jeder fortschreitenden Tuberkulose vorkommenden Auftreten von einigen wenigen Tuberkelbakterien in der Blutbahn und dem massenhaften Einbruch der Erreger in das Blut, der von einer ungünstigen Reaktionslage des Organismus abhängig ist. Er wird nach den Befunden von Nieberle und Meyn bei der akuten Miliartuberkulose sowie in den Niederbruchsstadien der chronischen Organtuberkulose in der Reinfektionsperiode gefunden. Letztere sind gekennzeichnet durch frisch verkäsende Vorgänge in den betroffenen Organen, hauptsächlich in der Lunge und im Euter. Diese heute als gesichert anzusehenden Erkenntnisse, die auch durch den histologischen Befund von zahlreichen Tuberkelbakterien in den Blutgefässen derartiger Verkäsungsherde erhärtet wur-

den, sind vor allem auch von Einfluß auf die Beurteilung des Fleisches tuberkulöser Schlachttiere, da von Meyn in diesen Fällen auch Tuberkelbakterien in der Muskulatur nachgewiesen wurden.

## III. Eigene Untersuchungen.

### A. Methodik und Technik.

Eine vollkommene Beherrschung der nicht ganz einfachen Technik bei der Tuberkelbakterienzüchtung war die notwendige Voraussetzung für die einwandfreie Durchführung der Versuche. Ich habe mich deshalb zunächst in die Herstellungsweise der Nährböden, die Technik ihrer Beimpfung und die Untersuchung der Kulturen gründlich eingearbeitet, wozu meine zweijährige Tätigkeit in der Tuberkulose-Abteilung des Instituts Gelegenheit bot. Gleichfalls machte ich mich mit den Methoden der klinischen Untersuchung, der Tuberkulinisierung und der Entnahme von Proben beim Rind gründlich vertraut.

#### 1. Entnahme des Untersuchungsmaterials.

Bei der Entnahme und Behandlung des Blutes für die Kultur habe ich die Methode Löwensteins zwar berücksichtigt, im allgemeinen jedoch das von Meyn, Breusch und Weiske angegebene Verfahren bevorzugt, da diese Verfasser die Salzsäurevorbehandlung des Materials in vergleichenden Untersuchungen als der von Löwenstein angegebenen Schwefelsäurebehandlung überlegen ermittelt hatten. Dieses Ergebnis entspricht auch den im Tierhygienischen Institut der Universität Freiburg erhobenen und seit Jahren immer wieder bestätigten Befunden. Auch habe ich ebenso wie die oben genannten Autoren als geeignetste Kulturmedien den festen Eiernährboden nach Petragnani und den flüssigen Nährboden nach Besredka angesehen.

Das für die Versuche zur Verwendung gelangende Blut wurde von den Meerschweinchen durch totale Entblutung aus der Karotis durchschnittlich 30—60 Tage nach erfolgter Infektion gewonnen. Die Infektion der Tiere war mit dem im laufenden Betrieb eingesandten Untersuchungsmaterial, hauptsächlich Lungenschleimproben von Rindern, sowie Milch- und Gebärmutterschleimproben subkutan an der Innenfläche des Hinterschenkels vorgenommen worden. Die

infizierten Meerschweinchen wurden einer laufenden Ueberwachung durch Betasten der örtlichen Kniefaltenlymphknoten sowie der Darmbeinlymphknoten unterzogen; die ersteren wurden nach festgestellter deutlicher Schwellung etwa von der dritten Woche nach erfolgter Infektion ab entnommen und mikroskopisch auf Tuberkelbakterien untersucht. Zur Entblutung kamen ausschließlich Meerschweinchen, deren Kniefaltenlymphknoten bei dieser Untersuchung Tuberkelbakterien enthielt.

Bei der Freilegung der Halsschlagader sowie bei der Entblutung der Meerschweinchen, die in Aethernarkose erfolgte, wurden die Regeln der Asepsis beachtet. Die Ausbeute betrug je nach Größe der Tiere 10—18 ccm Blut, das unmittelbar in einem mit 5 ccm 10%iger Natriumzitratlösung beschickten Zentrifugenröhrchen aufgefangen wurde. Der Verschluß des Glases geschah durch Aufstülpen einer sterilen Gummikappe. Das Blut wurde zwecks Verhinderung der Gerinnung alsbald 1 Minute mit der Hand gut geschüttelt.

Von Rindern habe ich das Blut nach sorgfältiger Desinfektion der Entnahmestelle mittels Jodtinktur durch Einstechen einer sterilen Kanüle in die Vena jugularis gewonnen. 20 ccm wurden in sterilen Zentrifugenröhrchen, die gleichfalls Natriumzitratlösung enthielten, aufgefangen, geschüttelt und zur weiteren Verarbeitung bereitgestellt bezw. ins Institut verbracht. Bei Schlachtrindern, die erst nach der Schlachtung als tuberkulös befunden wurden, entnahm ich das Blut unter peinlicher Vermeidung jeglicher Verschmutzung durch Anstechen der rechten Herzkammer.

## 2. Vorbereitung der Blutproben für die Verimpfung.

Das Blut-Zitratgemisch wurde in den verschlossenen Zentrifugenröhrchen bei den ersten 100 Versuchen 30 Minuten mit 3000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert; der Verlauf der Versuche ergab jedoch alsbald, daß ein 20 Minuten dauerndes Zentrifugieren ebenfalls genügte. Nachdem ich dann das Plasma von den ausgeschleuderten roten Blutkörperchen abgegossen hatte, wurden letztere durch Zusatz von 20 ccm sterilem destillierten Wasser unter kräftigem minutenlangen Schütteln aufgelöst und sodann durch Zentrifugieren gut ausgewaschen, um das Haemoglobin nach

Möglichkeit zu entfernen. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgegossen; das Sediment erhielt einen Zusatz von 10 ccm einer 10%igen Salzsäurelösung. Hierauf wurde es mit einem Platinspatel aufgelockert, gut durchgerührt und nochmals bei 3000 Umdrehungen 20 Minuten zentrifugiert. Hiermit war das Material nach Weggießen der Salzsäure für die Verimpfung auf Nährböden vorbereitet.

Bevor ich endgültig zu dieser späteren Standardmethode überging, habe ich die Blutkörperchen in 58 Fällen vor der Salzsäurebehandlung nicht ein-, sondern zweimal mit je 20 ccm sterilem destillierten Wasser gewaschen, und nach der Salzsäurebehandlung wurde vor der Verimpfung des Materials zwecks restloser Entfernung der Säure nochmals eine Waschung mit destilliertem Wasser eingeschoben. Da sich in den Vergleichsversuchen mit künstlich infiziertem Blut ein Vorteil dieser umständlichen Methode nicht feststellen ließ, wurde sie wieder aufgegeben.

In vergleichenden Parallelversuchen hat die Methodik schließlich eine Abwandlung nach der von Kovacs angegebenen Richtung erfahren. Das Blutgemisch wurde hierbei zu gleichen Teilen in 2 Röhrchen gebracht, wobei das Zentrifugat nach den Angaben von Kovacs in dem einen Röhrchen mit 10 ccm einer 0,75%igen Aufschwemmung von Merckscher Tierkohle in sterilem destillierten Wasser versetzt, gut durchgeschüttelt und 20 Minuten zentrifugiert wurde. Die weitere Verarbeitung erfolgte in gleicher Weise nach der Standardmethode, die bei dem Material im zweiten Versuchsröhrchen angewandt wurde.

### 3. Herstellung der Nährböden.

Als Nährböden benützte ich in meinen Versuchen, wie erwähnt, die im Tierhygienischen Institut Freiburg seit 1932 für die Tuberkelbakterienzüchtung in größtem Umfang bewährten Nährböden nach Petragnani und Besredka. Bei der Herstellung befolgte ich genauestens die in den Arbeiten von Graf und Rupp angegebenen, in der Folgezeit bewährten Vorschriften. Da der Erfolg der Tuberkelbakterienzüchtung von der richtigen Nährbodenherstellung in erster Linie abhängt, wird die Anweisung nach Graf im folgenden genau wiedergegeben.

„Bei dem Petragnani-Nährboden kommen zu 300 ccm Milch, in der 12 g Kartoffelmehl kalt gelöst sind, 2 g

Pepton und 2 mittelgroße, in Stücke geschnittene Kartoffeln. Das Ganze wird unter ständigem Schütteln etwa 10 Minuten im Wasserbad bei 100 C° gehalten, wodurch die in der Milch befindlichen Kartoffeln sich teilweise auflösen, sodaß eine Verkleisterung erfolgt. Wenn diese eingetreten ist, läßt man den Glasbehälter noch eine Stunde im Wasserbad oder im Dampftopf bei 100 C°. Inzwischen werden 10 frische Eier gründlich mit Alkohol gereinigt, und der ganze Inhalt von 8 Eiern sowie 2 Eigelb mit Glasperlen geschüttelt, bis die Dottermasse vollständig aufgelöst ist. Nach einer Stunde nimmt man den Kolben mit obiger Mischung aus dem Dampftopf heraus, kühlt ihn ungefähr auf 50 C° ab und fügt zu der abgekühlten Masse die Eiflüssigkeit sowie 20 ccm einer 2%igen wässerigen Malachitgrünlösung (Malachitgrün extra, chemisch rein, Leverkusen) hinzu. Das Ganze wird kräftig geschüttelt, bis eine gleichförmige Masse entsteht. Vor allem müssen auch die ab und zu fest am Boden des Glasgefässes haftenden Kartoffeln sich losgelöst haben. Darauf wird die Nährbodenmasse durch ein engmaschiges Sieb filtriert, und das Filtrat mittels eines Heißwassertrichters in sterile Reagensgläser abgefüllt. Beim Abfüllen der Röhrchen ist darauf zu achten, daß unter Vermeidung von Blasenbildung möglichst senkrecht eingefüllt wird, um ein Verschmieren der Wand des Reagensglases durch den Nährboden zu vermeiden, weil sich dieser Uebelstand bei der späteren Beobachtung der Kulturen störend bemerkbar macht.

Vorteilhaft werden die Röhrchen nicht gleich nach dem Abfüllen in den Erstarrungsapparat verbracht, sondern erst eine halbe Stunde lang kühl gestellt, bis die Luftbläschen, die sich beim Abfüllen bilden, verschwunden sind. Bei der sofortigen Erstarrung würden diese Luftbläschen platzen und an der betreffenden Stelle jedesmal ein kleines Loch im Nährboden zurücklassen. Das Beimpfen von Kulturen mit einer solch durchlöcherten Oberfläche ist schwierig, und auch die spätere Beobachtung der Kulturen wird wesentlich beeinträchtigt. Das Erstarrenlassen des Nährbodens in Schräglage wird an 2 aufeinander folgenden Tagen vorgenommen; am 1. Tag bei 85 C° solange, bis der Nährboden beim Beklopfen fest erscheint, am 2. Tag bei 75 C° ungefähr ¾ Stunden lang. Die Methode hat den Vorteil, daß sich in den Röhrchen etwas mehr Kondenswasser bildet als bei der nur einmaligen Erstarrung. Bei Röhrchen mit wenig

Kondenswasser wurde solches vor dem Beimpfen in Form von etwa 0,5 ccm natursaurer Bouillon zugesetzt. Nach der Erstarrung sollen die Nährböden eine möglichst glatte spiegelblanke Oberfläche haben.

Beim Besredka-Nährboden werden 2 Eigelb mit Glasperlen geschüttelt und mit 100 ccm destilliertem Wasser gemischt. Dazu gibt man nach und nach soviel einer 1%igen Sodalösung, bis die Eiflüssigkeit in der Pipette transparent erscheint. Der Verbrauch der Sodalösung zur Klärung der Eiflüssigkeit ist sehr verschieden und hängt von den verwendeten Eiern ab. Am zweckmäßigsten wird bei der Herstellung von größeren Mengen Besredka-Bouillon zuerst eine kleinere Menge geklärt, etwa 10 ccm, und danach der Verbrauch an Sodalösung auf die ganze Menge umgerechnet. Bis zur völligen Durchsichtigkeit werden nicht selten 4 bis 6 ccm Sodalösung benötigt. Bei Verwendung kleinerer Mengen Sodalösung bleibt die Flüssigkeit trüb, was eine Beobachtung von Tuberkelbakterienwachstum sehr erschwert. Darauf wird die Flüssigkeit mit destilliertem Wasser bis 700 ccm aufgefüllt und zu 1 % mit einer 2%igen wässerigen Malachitgrünlösung versetzt, in Reagensgläser abgefüllt und an 2 aufeinander folgenden Tagen je 1½ Stunde sterilisiert. Vor dem Abfüllen in Reagensgläser wird die Besredka-Bouillon zur Vermeidung störender Bodensätze durch einen Papierfilter filtriert."

Die Nährböden enthielten kein Glyzerin, das nach allgemeiner Erfahrung das Wachstum der Tuberkelbakterien vom Typus bovinus vor allem in den Originalkulturen beim Herauszüchten des Erregers aus tierischen Subtraten hemmt. Als Kulturröhrchen dienten starkwandige Reagensgläser von 16 cm Länge und 1,8 cm lichter Weite, die sich für diesen Zweck im Institut besonders bewährt haben.

### 4. Anlegen und Untersuchung der Kulturen.

Bei der Verimpfung habe ich den Bodensatz eines jeden Zentrifugenröhrchens mit der Platinöse auf jeweils 2 Petragnani- und 2 Besredka-Nährböden übertragen; auf dem Petragnani-Nährboden wurde das Material, jedoch ohne die Oberfläche des Nährbodens sichtbar zu verletzen, möglichst restlos eingerieben. Bei den flüssigen Nährböden habe ich den Bodensatz zunächst an der Wand des Röhrchens gut verrieben und dann abgeschwemmt. Der Verschluß der beimpften

Röhrchen erfolgte mit Watte und aufgetropftem Paraffin. Die Nährböden wurden bei 37 C° 3 Monate lang bebrütet.

Das Wachstum der Kulturen habe ich vom 15. Tage ab laufend geprüft. Alle 2 Tage wurden die Röhrchen mit bloßem Auge sowie mit der Lupe durchgemustert; die Prüfung wurde bei makroskopisch sichtbarem Wachstum durch die sofortige mikroskopische Untersuchung von Kulturausstrichen ergänzt. Bei den Röhrchen ohne makroskopisches Wachstum habe ich nach dem Vorschlag von Löwenstein erst nach dem 60. Tage einen Abstrich von der Nährbodenoberfläche gefärbt und mikroskopisch untersucht, um nicht durch zu frühzeitigen Eingriff verzögert auftretendes Wachstum zu stören bezw. zu unterdrücken. Die meisten Nährbodenröhrchen habe ich nicht einmal, sondern mehreremale nach dem 60. Tage mikroskopisch auf das Vorhandensein von säurefesten Stäbchen untersucht. Ich glaubte, auf diese sehr mühselige und zeitraubende mikroskopische Prüfung nicht verzichten zu dürfen, da Löwenstein seine Angaben großenteils auf den mikroskopischen Nachweis säurefester Stäbchen ohne makroskopisches Kulturwachstum gründet.

Diese Beweisführung Löwensteins steht allerdings nicht im Einklang mit den Erfahrungen des Tierhygienischen Instituts, wonach bei tatsächlicher Gegenwart von vermehrungsfähigen Tuberkelbakterien praktisch immer auch mit einem makroskopischen Wachstum der Keime, wenn auch nur in Form einer einzigen oder von wenigen Kolonien zu rechnen ist. Auch stimmt dieser Befund überein mit den Ergebnissen meiner zur Kontrolle angesetzten Versuchsreihen, wobei dem Blute normaler, nicht tuberkulöser Tiere künstlich Tuberkelbakterien zugesetzt wurden, und wobei stets makroskopisches Wachstum auftrat. Letzteres ist gekennzeichnet durch das frühestens nach 12 Tagen sichtbare Auftreten von spärlichen, gelblich-weißen, meist feuchtglänzenden Kolonien. Bei Anwesenheit reichlicher Tuberkelbakterienmengen bildet sich ein dünner, gelber, schleierartiger Belag.

Bei den positiv verlaufenden Fällen, in denen ich mindestens in einem der Kulturröhrchen eine einzige oder mehrere Kolonien tuberkelbakterienähnlicher Stäbchen nachweisen konnte, wurden mit dem Material alsbald Subkulturen angelegt. Außerdem wurden 2 Meerschweinchen mit der Abschwemmung der Nährbodenoberfläche bezw.

dem auszentrifugierten Kulturmaterial der Besredka-Bouillon subkutan infiziert. Auf diese Weise sollten die Wachstumsfähigkeit und das pathogene Verhalten und damit die Identität der aus dem Blut gezüchteten, auf Grund des mikroskopischen und kulturellen Befundes als Tuberkelbakterien angesprochenen, säurefesten Stäbchen in einwandfreier Weise untersucht und gesichert, sowie Irrtümer vermieden werden. Erst wenn die Subkultur und der Tierversuch positiv verlaufen waren, wurden die gefundenen Keime endgültig als Tuberkelbakterien angesprochen.

Die Färbung der Ausstriche habe ich nach der Methode von Konrich vorgenommen, die auf Grund langjähriger Erfahrung im Tierhygienischen Institut Freiburg i. Br. der Methode nach Ziehl-Neelson nicht nachsteht und ebenso gute Bilder liefert, außerdem aber den Vorzug der Billigkeit besitzt, da bei diesem Verfahren kein Alkohol verwendet wird. Die Färbung erfolgt wie bei der Methode nach Ziehl-Neelson mit 10%igem Karbolfuchsin, das bis zum Aufsteigen von Dämpfen erhitzt wird. Die Entfärbung wurde zunächst mittels einer 1%igen Salzsäurelösung, sodann mit 10%iger Natriumsulfitlösung vorgenommen. Die Gegenfärbung erfolgte 1 Minute mit 2%igem Malachitgrün.

Die Ausstrichpräparate von positiven Blutkulturen auf Petragnani-Nährböden enthielten rotgefärbte, entweder in kleineren Nestern oder in größeren Haufen massenhaft nebeneinander liegende Stäbchen. Die in der Besredka-Bouillon gewachsenen Tuberkelbakterien dagegen bildeten in der Regel zopfförmig verflochtene Stränge rotgefärbter Stäbchen.

## B. Verlauf der Versuche.

### 1. Vorversuche.

Vor Beginn der eigentlichen Versuche verschaffte ich mir durch entsprechende Kontrollen zunächst Aufschluß darüber, ob nicht die für die Vorbehandlung des Blutes erforderlichen Zusätze, Natriumzitratlösung, destilliertes Wasser und Salzsäure, einen nachteiligen Einfluß auf die Wuchsfähigkeit der Tuberkelbakterien ausüben. Es wurden zu diesem Zweck Tuberkelbakterien den genannten Flüssigkeiten jeweils zugesetzt und sodann diese Gemische der weiteren, oben bereits geschilderten Bearbeitung unterworfen, bevor die Verimpfung auf Nährböden erfolgte. Der Bakterienzusatz ge-

schah in der folgenden Weise. Von einer aus frischem Material herausgezüchteten Kultur des Typus bovinus wurde eine isolierte, gut gewachsene, kleinstecknadelkopfgroße Tuberkelbakterienkolonie entnommen und in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung so fein wie möglich verteilt. Von dieser Aufschwemmung setzte ich jeweils eine Oese (1,5 mm lichter Durchmesser) zu den zu prüfenden Flüssigkeiten.

Zunächst wurde in 14 Versuchen der Einfluß der Natriumzitratlösung auf das Wachstum der Tuberkelbakterien geprüft. Zu jeweils 10 ccm der 10%igen Natriumzitratlösung kam eine Oese Tuberkelbakterienaufschwemmung. Im übrigen wurde das Ganze der weiteren Behandlung unterzogen wie bei der oben beschriebenen Standardmethode. Das gewonnene Sediment habe ich auf jeweils 2 feste Petragnani-Nährböden sowie in 2 Röhrchen mit Besredkabrühe verimpft. Das Ergebnis dieses Vorversuchs wird durch nebenstehende Tabelle I veranschaulicht.

Die Uebersicht zeigt den Befund der 14 Versuche bei der Untersuchung der Nährböden am 12.—40. Tage nach der Beimpfung. Der Einfachheit halber ist das Ergebnis der in allen Versuchen verwendeten 2 Petragnani- und 2 Besredka-Röhrchen jeweils zusammengefaßt, da Unterschiede im Wachstum bei den einzelnen Röhrchen so gut wie nicht vorhanden waren. Die Tabelle lehrt, daß sämtliche Versuche positiv verlaufen sind, d. h. es ist in allen Fällen sowohl auf dem festen wie auf dem flüssigen Nährboden makroskopisch feststellbares Wachstum in Form von mindestens einer, meistens aber mehrerer Kolonien aufgetreten, wobei die mikroskopische Untersuchung auf Tuberkelbakterien positiv verlaufen ist. Am frühesten war das Wachstum im zweiten Versuch nach 14 Tagen, am spätesten im ersten Versuch nach 40 Tagen feststellbar; der Durchschnitt betrug 16—20 Tage. Aus diesem Ergebnis kann entnommen werden, daß der Zusatz von Natriumzitrat eine schädigende Wirkung auf die Tuberkelbakterien innerhalb der Versuchszeiten nicht ausgeübt hat.

Die zweite Reihe der Vorversuche sollte über eine etwaige schädigende Wirkung des destillierten Wassers auf die Tuberkelbakterien Aufschluß geben. Es wurden zu diesem Zweck 3 Versuche in derselben Weise wie bei der ersten Reihe der Vorversuche, jedoch an Stelle von Natriumzitratlösung mit destilliertem Wasser angesetzt. Die weitere Be-

**Tabelle I.**

| Tage | 12 | | 14 | | 16 | | 18 | | 20 | | 22 | | 24 | | 28 | | 40 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nährboden | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B |
| Lfd. Nr. | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ++ | + |
| 2 | — | ? | + | ++ | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | — | — | — | — | — | + | + | ++ | | | | | | | | | | |
| 4 | — | | — | — | — | — | — | ? | + | + | | | | | | | | |
| 5 | — | — | — | — | — | — | — | — | ? | ? | + | + | | | | | | |
| 6 | — | — | — | ? | ? | + | + | ++ | | | | | | | | | | |
| 7 | — | — | — | — | — | — | — | ? | + | ++ | | | | | | | | |
| 8 | — | — | — | — | — | — | ? | ? | + | + | | | | | | | | |
| 9 | — | ? | ? | + | + | ++ | | | | | | | | | | | | |
| 10 | — | — | — | ? | + | ++ | | | | | | | | | | | | |
| 11 | — | — | — | — | — | — | — | ? | — | + | ++ | + | | | | | | |
| 12 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ? | + | | | | | | |
| 13 | — | — | — | — | — | ? | — | + | — | + | — | + | — | + | — | + | | |
| 14 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | | |

**Zeichenerklärung:** P = Petragnani-Nährboden B = Besredka-Brühe
\+ = positiv (1 — 3 Kolonien) ++ = stärker positiv (4 — 6 Kolonien)
+++ = stark positiv (7 und mehr Kolonien) — = negativ
? = verdächtig (makroskopisch noch nicht eindeutig positiv)

handlung des Materials war völlig gleich wie bei der ersten Versuchsreihe. Die Ergebnisse sind in folgender Uebersicht enthalten.

**Tabelle II**

| Tage | 12 | | 14 | | 16 | | 18 | | 20 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nährboden | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B |
| Lfd. Nr. | | | | | | | | | | |
| 1. | + | + | ++ | ++ | | | | | | |
| 2. | – | – | – | – | – | – | ? | ? | + | + |
| 3. | – | – | + | – | ++ | ? | ++ | + | | |

Die Versuche sind ähnlich verlaufen wie bei der ersten Kontrollreihe. Innerhalb 12—20 Tagen war in allen Röhrchen makroskopisch sowie mikroskopisch Wachstum von Tuberkelbakterien eindeutig nachweisbar. Ein nachteiliger Einfluß des destillierten Wassers auf die Tuberkelbakterien hat sich somit nicht ergeben. Da die Vorbereitung des Materials für die Verimpfung in beiden Versuchsreihen unter Zusatz von 10%iger Salzsäurelösung geschah, kann aus den Versuchsergebnissen gleichzeitig geschlossen werden, daß die Salzsäure in der genannten Konzentration und innerhalb der Versuchszeiten keinen schädlichen Einfluß auf das Wachstum der Tuberkelbakterien ausgeübt hat, eine Feststellung, die in vollem Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren sowie vor allem auch mit den seit Jahren im Tierhygienischen Institut Freiburg an einem großen Material gesammelten Erfahrungen steht.

Schließlich sei hier eine dritte Versuchsreihe von 26 Einzelversuchen wiedergegeben, die in der gleichen Weise wie die Hauptversuche mit Zitratblut, jedoch unter Hinzufügung einer Oese Tuberkelbakterienaufschwemmung, angestellt worden sind. Als Blutspender dienten Meerschweinchen, die wie die nachfolgende Sektion ergab, tuberkulosefrei waren. Zu je 15 ccm Blut kamen 5 ccm Natriumzitratlösung sowie eine Oese Tuberkelbakterienaufschwemmung. Die weitere Verarbeitung geschah nach der Standardmethode wie bei den ersten beiden Versuchsreihen. Das Ergebnis der 26 Versuche ist in der folgenden Tabelle III zusammengefaßt.

**Tabelle III**

| Tage | 12 | | 14 | | 16 | | 18 | | 20 | | 22 | | 24 | | 28 | | 30 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nährboden | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B |
| Lfd. Nr. | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1. | — | — | — | — | — | ? | — | + | + | ++ | | | | | | | | |
| 2. | — | — | — | — | — | ? | + | + | ++ | + | ++ | ++ | | | | | | |
| 3. | — | — | — | ? | — | + | — | + | — | + | | | | | | | | |
| 4. | — | — | S | — | S | — | S | — | S | — | S | — | S | ? | | | — | + |
| 5. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | | | | | | |
| 6. | — | — | — | ? | ++ | + | ++ | + | ++ | + | ++ | + | | | | | | |
| 7. | — | — | ? | ? | ? | + | + | + | + | + | | | | | | | | |
| 8. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ? | ? | ? | + | + | | | | |
| 9. | — | — | — | — | — | — | — | — | ? | — | ? | — | + | ? | | | + | + |
| 10. | — | — | ? | — | ? | — | ? | ? | + | + | | | | | | | | |
| 11. | ? | — | ++ | + | ++ | ++ | | | | | | | | | | | | |
| 12. | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ | | | | | | | | | | | | |
| 13. | — | — | — | ? | — | + | ? | + | ++ | ++ | | | | | | | | |
| 14. | ? | — | + | ? | ++ | + | ++ | + | | | | | | | | | | |
| 15. | — | — | — | — | ? | ? | + | + | ++ | ++ | | | | | | | | |
| 16. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ? | — | ++ | + | | |
| 17. | — | — | — | — | — | ? | — | + | + | + | | | | | | | | |
| 18. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | — | + | | | | | | |
| 19. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | +*) | | | + | — |
| 20. | + | — | ++ | ++ | | | | | | | | | | | | | | |
| 21. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | +**) | | | — | + |
| 22. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ? | — | + | + | +**) | | |
| 23. | + | + | + | + | ++ | ++ | | | | | | | | | | | | |
| 24. | — | — | — | ? | — | + | + | + | | | | | | | | | | |
| 25. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | | | | | | | | | | | | |
| 26. | + | — | ++ | ++ | ++ | ++ | | | | | | | | | | | | |

**Zeichenerklärung:** S = Schimmelbildung *) = 50 Tage **) = 45 Tage

Die dritte Reihe von Vorversuchen mit künstlich infiziertem Normalblut ist demnach in ähnlicher Weise wie die beiden ersten Versuchsreihen positiv verlaufen. Die Tuberkelbakterien konnten in allen Fällen und in einwandfreier Weise durch die Kultur sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch nachgewiesen werden. Dabei war in 5 Versuchen das Wachstum bereits am 12. Tage nach der Verimpfung feststellbar. Der Versuch Nr. 4 war durch Schimmelbildung gefährdet, jedoch konnte in der Besredka-Brühe am 28. Tage das Wachstum einwandfrei festgestellt werden, und zwar wiederum entsprechend den Erfahrungen des Instituts, daß bei Schimmelbildung der flüssige Nährboden in der Regel dem festen Petragnani-Nährboden überlegen ist und die Diagnose auch in solchen Fällen ermöglicht. In der großen Mehrzahl der Fälle konnte die Diagnose durchschnittlich nach 16—20 Tagen gestellt werden. Durch den Verlauf der dritten Versuchsreihe ist der Beweis für die Eignung der von mir gewählten Methode zum Nachweis von Tuberkelbakterien im Blute erbracht.

In den Hauptversuchen wurde mit den Versuchen, die an einem Tag angestellt wurden, zur Kontrolle jeweils ein Versuch mit künstlich infiziertem Normalblut in der vorstehenden Weise mit angesetzt. Es sei schon hier bemerkt, daß das Ergebnis dieser Kontrollversuche in allen Fällen positiv war.

Die bisher geschilderten Ergebnisse wurden mit ein und demselben Tuberkelbakterienstamm erzielt. Es wurde deshalb noch die Frage untersucht, ob die Ergebnisse bei Verwendung verschiedener Tuberkelbakterienstämme vom Typus bovinus Unterschiede aufweisen. Ich habe deshalb in einer weiteren Versuchsreihe die bisher erhaltenen Befunde unter Verwendung von 3 Bakterienstämmen verschiedener Herkunft überprüft. Mit Stamm II und III wurden je 2 Blutversuche, 1 Natriumzitratversuch und 1 Versuch mit destilliertem Wasser, mit Stamm I nur 1 Blutversuch, 1 Natriumzitratversuch und 1 Versuch mit destilliertem Wasser vergleichend angesetzt. Das Blut stammte von nicht tuberkulösen Meerschweinchen. Die Ergebnisse werden durch die folgende Uebersicht veranschaulicht.

**Tabelle IV**

| Tage | 12 | | 14 | | 16 | | 18 | | 20 | | 22 | | 24 | | 30 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nährboden | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B | P | B |
| **Stamm I** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1. Blut | — | — | S | — | S | — | S | — | S | — | S | — | S | ? | S | + |
| 2. Nazitr. | — | — | — | — | — | — | — | ? | + | + | + | + | | | | |
| 3. Aq. dest. | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ | | | | | | | | | | |
| **Stamm II** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1. Blut | — | — | ? | — | ? | — | ? | ? | + | + | | | | | | |
| 2. Blut | ? | — | ++ | + | ++ | ++ | | | | | | | | | | |
| 3. Nazitr. | — | — | — | — | — | — | ? | ? | + | + | | | | | | |
| 4. Aq. dest. | — | — | — | — | — | — | ? | ? | + | + | | | | | | |
| **Stamm III** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1. Blut | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ | | | | | | | | | | |
| 2. Blut | — | — | — | ? | — | + | ? | + | ++ | ++ | | | | | | |
| 3. Nazitr. | — | — | ? | + | + | ++ | + | ++ | | | | | | | | |
| 4. Aq. dest. | — | — | + | — | ++ | ? | +-+ | + | | | | | | | | |

Die Uebersicht zeigt, daß die 11 Versuche einheitlich positiv verlaufen sind. Die zeitlichen Schwankungen sind unerheblich und gestatten keinen Rückschluß auf ein grundsätzlich verschiedenes Verhalten der 3 Tuberkelbakterienstämme.

Schließlich wurden in der 5. Versuchsreihe Vergleiche zwischen der von mir geübten Methode und dem nach Kovacs unter Hinzufügung von Tierkohle abgeänderten Verfahren angestellt. In diesen Versuchen wurde Blut von 4 nicht tuberkulösen Rindern (negative Tuberkulinreaktion) benützt, dem Tuberkelbakterien künstlich in der bereits geschilderten Weise hinzugefügt waren. Der Verlauf der Versuche ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

**Tabelle V**

| Tage | 12 | | 14 | | 16 | | 18 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nährboden | P | B | P | B | P | B | P | B |
| 1a Standard. | + | ? | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 1b Adsorpt. | — | — | — | ? | ? | + | + | + |
| 2a Standard. | + | + | + | + | | | | |
| 2b Adsorpt. | — | — | ++ | — | ++ | + | | |
| 3a Standard. | — | — | ? | ? | — | + | — | + |
| 3b Adsorpt. | — | ? | + | ++ | ++ | ++ | | |
| 4a Standard. | — | — | — | — | + | ? | + | ++ |
| 4b Adsorpt. | — | — | — | ? | — | + | + | ++ |

**Zeichenerklärung:** Standard. = Standardmethode
Adsorpt. = Adsorptionsmethode

Die 4 Blutproben wurden nach Beimpfung mit Tuberkelbakterien gut geschüttelt und zu gleichen Teilen nach der Standard- und nach der Adsorptionsmethode von Kovacs verarbeitet. In 2 Fällen war die Standardmethode insofern überlegen, als das positive Ergebnis bereits am 12. Tage gegenüber dem positiven Befund der Adsorptionsmethode

am 14. Tage bezw. 16. Tage feststand; 2 weitere Fälle verhielten sich umgekehrt; hier wurde das positive Ergebnis mit der Adsorptionsmethode früher als mit der Standardmethode erzielt. Vereinzelt waren bei dem Verfahren nach Kovacs die Kolonien etwas zahlreicher und größer als bei den anderen Verfahren. Einen grundsätzlichen Unterschied der beiden Methoden konnte ich jedoch nicht ermitteln, da sämtliche Versuche positiv verlaufen sind.

### 2. Hauptversuche.

Die Hauptversuche wurden sowohl mit tuberkulösen Meerschweinchen als auch mit tuberkulösen Rindern sowie mit Rindern, die neben der Tuberkulose auch an anderen Krankheiten litten, und schließlich mit Rindern, die bei der Tuberkulinprobe negativ reagierten, angestellt.

*a) Meerschweinchenversuche.*

Die Untersuchung erstreckte sich zunächst auf 325 tuberkulöse Meerschweinchen, die im Rahmen der diagnostischen Untersuchungen für das freiwillige Tuberkulosebekämpfungsverfahren größtenteils mit Sputum, zum geringeren Teil mit Milch bezw. Gebärmuttersekret tuberkulöser Rinder infiziert worden waren. Die nach der Entblutung vorgenommene Sektion der Meerschweinchen ergab in den meisten Fällen eine Generalisation des Prozesses in fast sämtlichen Organen. Nur in 39 Fällen beschränkte sich die Infektion auf Grund des makroskopischen Befundes auf ein einziges Organ.

Die 325 Blutproben wurden nach der beschriebenen Methode bearbeitet und auf jeweils 4 Kulturröhrchen verimpft. Bei 64 Proben kam neben der Standardmethode parallel das Verfahren nach Kovacs zur Anwendung. Das Material wurde in diesen Fällen demnach auf 8 Röhrchen verteilt. Insgesamt wurden 1556 Kulturen angelegt. Der Verlauf der positiven Versuche wird durch die folgende Tabelle wiedergegeben.

**Tabelle VI**

| Lfd. Nr. | Me-Ohr-Marke | Sektionsbefund | Blutkultur Zahl der Kolonien | | makroskopisch positiv nach Tagen |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Petragnani | Besredkabrühe | |
| 1. | 19/58 | Tb sämtlicher Organe | 1 und 2 | vereinzelte | 30 |
| 2. | 38/218 | Tb sämtlicher Organe | 3 und 4 | —— | 35 |
| 3. | 55/145 | Tb sämtlicher Organe | —— | einzelne | 45 |
| 4. | 127/812 | Tb sämtlicher Organe | 2 und 3 | mehrere | 18 bezw. 32 |
| 5. | 147/727 | Tb sämtlicher Organe u. hochgradige Abmagerung | 1 und 0 | vereinzelte | 45 |
| 6. | 171/767 | Tb sämtlicher Organe | 1 | —— | 27 |
| 7. | 176/761 | Tb sämtlicher Organe | 2 | vereinzelte | 38 |
| 8. | 236/570 | Tb sämtlicher Organe | 1 | —— | 57 |
| 9. | 280/486 | Tb der Lunge und Leber | 2 und 3*) bezw. 4 und 4**) | vereinzelte | 28 28 |
| 10. | 299/577 | Tb sämtlicher Organe | 4 und 3*) bezw. 5 und 7**) | mehrere | 27 bezw. 32 |

**Zeichenerklärung:** Me = Meerschweinchen
*) = Standardmethode
**) = Adsorptionsmethode

Der Befund war somit 10 mal positiv und 315 mal negativ. Die Blutspender bei den positiven Fällen waren hochgradig tuberkulös mit Erkrankung fast sämtlicher Organe. Das positive Ergebnis stand frühestens am 18. sowie spätestens am 57. Tage nach der Verimpfung fest. Gegenüber den Vorversuchen war die Wachstumsdauer bis zum Sichtbarwerden der Kolonien durchschnittlich etwa 10 Tage länger. Die Zahl der Kolonien schwankte zwischen 1 und 7. Ein grundsätzlicher Unterschied zwischen dem festen und dem flüssigen

Nährboden war nicht festzustellen. Der feste Nährboden versagte bei dem Versuch Nr. 3, der flüssige Nährboden bei dem Versuch Nr. 2 und Nr. 6. Die Adsorptionsmethode war bei 2 von 64 Proben positiv. Gleichzeitig erzielte jedoch in diesen beiden Fällen auch die Standardmethode einen positiven Befund. Somit konnte eine Ueberlegenheit des Adsorptionsverfahrens über die Standardmethode auch in den Hauptversuchen nicht festgestellt werden. Sämtliche Kulturen wurden auf jeweils 2 Meerschweinchen verimpft. Alle 20 Versuchstiere sind an Tuberkulose und zwar durchschnittlich innerhalb 60 Tagen nach der Infektion verendet. Dadurch ist einwandfrei erwiesen, daß es sich bei den in 10 Fällen aus dem Blute tuberkulöser Meerschweinchen herausgezüchteten Keimen tatsächlich um vollvirulente Tuberkelbakterien gehandelt hat. Die Vermehrungsfähigkeit der 10 Stämme konnte außerdem durch ihre Weiterverimpfung in Subkulturen dargetan werden.

*b) Rinderversuche.*

Bei den mit Rindern angestellten Versuchen dienten zunächst 47 Tiere als Blutspender, die bei den planmäßigen Untersuchungen im Rahmen des Tuberkulosebekämpfungsverfahrens klinisch-bakteriologisch als offentuberkulös ermittelt worden waren. Die polizeilich angeordnete Tötung dieser Tiere erfolgte im Freiburger Schlachthof. Die Sektion ergab in fast allen Fällen offene Lungentuberkulose, die z. T. mit Tuberkulose noch anderer Organe vergesellschaftet war, im übrigen Euter- oder Gebärmuttertuberkulose.

Weitere 47 Blutproben wurden im Schlachthof aus dem Herzen von Tieren entnommen, die sich bei der Schlachtung zufällig als tuberkulös erwiesen.

Sämtliche 94 Blutproben sind mit der Standardmethode, 23 Proben außerdem nach dem Verfahren von Kovacs auf Tuberkelbakteriengehalt untersucht worden. Insgesamt wurden somit 468 Kulturröhrchen beimpft.

Von diesen insgesamt 94 Rinderblutproben wurde nur in einem einzigen Falle ein positives Kulturergebnis mit der Standardmethode erzielt. Je 1 Petragnani- bezw. Besredka-Nährbodenröhrchen zeigte am 65. Tage nach der Verimpfung vereinzelte Kolonien, die durch den positiv verlaufenden Meerschweinchenversuch ebenso wie durch die positiven Subkulturen als Tuberkelbakterien erkannt wurden. Es handelte sich um eine stark abgemagerte, 5 Jahre alte Höhen-

fleckviehkuh mit tuberkulösem Primärherd in der Lunge und frisch verkäsender Tuberkulose fast sämtlicher Organe.

Bei den geschilderten 94 Fällen erfolgte die Blutentnahme jeweils nur einmalig und zwar kurz vor oder bei der Schlachtung. In der Erwägung, daß die Tuberkelbakterien in den meisten Fällen vermutlich nur vorübergehend in der Blutbahn kreisen, hielt ich außerdem eine innerhalb kurzer Zeit mehrmals wiederholte Blutentnahme bei ein und demselben tuberkulösen Tier für angezeigt. Es wurden für diesen Versuch 6 durch die klinisch-bakteriologische Untersuchung als offen lungentuberkulös ermittelte Kühe verschiedenen Alters in den Institutsstall eingestellt. Nach nochmaliger Lungenschleimentnahme mittels der Trachealkanüle wurde in allen Fällen durch den mikroskopischen Nachweis der Tuberkelbakterien das Vorhandensein offener Lungentuberkulose bestätigt. Die Tiere standen 2 Tage für die Untersuchung zur Verfügung. Mit wenigen Stunden Zwischenräumen wurden von ihnen in 2 Fällen 9 mal, in 2 Fällen 8 mal und in 2 Fällen 3 mal Blutproben aus der Drosselvene entnommen. Die Verarbeitung erfolgte mit jeweils 8 Röhrchen sowohl nach der Standardmethode als auch nach dem Verfahren von Kovacs; die Gesamtzahl der beimpften Kulturröhrchen betrug 320.

Die Kulturen sind durchweg steril geblieben. Der Nachweis von Tuberkelbakterien ist demnach bei diesen Tieren trotz wiederholter, innerhalb kurzen Zeitabständen erfolgter Blutentnahme nicht gelungen. Bei der Schlachtung erwiesen sich alle 6 Kühe als mit offener Lungentuberkulose sowie teilweise auch mit Tuberkulose anderer Organe behaftet. Eine der Erkrankungsformen, die nach den Feststellungen von Nieberle mit dem Auftreten von Tuberkelbakterien in der Blutbahn ursächlich besonders häufig in Beziehung stehen, lag nicht vor.

Die weiteren Versuche erstreckten sich auf die Verimpfung von Blutproben von 97 Rindern aus 7 größeren Beständen, in denen sowohl Tuberkulose als auch Bruzellose sowie gelber Galt und Jungtierkrankheiten stationär sind. Es sollte durch diese Versuche nachgeprüft werden, ob durch das Zusammentreffen der Tuberkulose mit einer oder mehreren der genannten Krankheiten das Auftreten von Tuberkelbakterien im strömenden Blut begünstigt wird.

Vor der Blutentnahme wurden sämtliche 97 Rinder klinisch auf Tuberkulose sowie Bruzellose und gelben Galt untersucht. Anschließend habe ich die intrakutane Tuberkulinprobe vorgenommen. Zur Injektion diente das Rindertuberkulin Höchst, das zunächst mit sterilem destillierten Wasser zu gleichen Teilen verdünnt und sodann mit einer Tuberkulinspritze in der Menge von jeweils 0,1 ccm intrakutan injiziert wurde. Die Impfstelle befand sich jeweils eine Hand breit vor der rechten Schulterblattgräte, wo die Haare durch Abscheren entfernt wurden. Mit dem von Götze angegebenen Kutimeter wurde die Hautdicke an der Injektionsstelle vor der Tuberkulinisierung sowie 72 Stunden nach erfolgter Injektion gemessen. War zu dieser Zeit eine Dickenzunahme der Haut von mindestens 3 mm festzustellen, so galt die Reaktion als positiv. Dickenzunahmen um 1½—2,9 mm wurden als zweifelhafte Reaktion, noch geringere Zunahmen als negative Reaktion angesprochen.

Unabhängig von dem Ausfall der Tuberkulinreaktion wurde von allen Tieren eine Lungenschleimprobe mittels Trachealkanüle und Seidenpinsels entnommen und zunächst mikroskopisch auf Tuberkelbakterien untersucht. Bei negativem Befund schloß sich die kulturelle Untersuchung unter Verimpfung auf je 2 Petragnani- sowie Besredka-Nährbodenröhrchen an. Schließlich wurde die Untersuchung durch die Entnahme einer Milchprobe sowie von 2 Blutproben ergänzt. Die erste Blutprobe wurde im gewöhnlichen A-Röhrchen aufgefangen, in dem sie geronnen ist. Sie diente der serologischen Untersuchung auf Bruzellose mittels Agglutination und Komplementbindung. Die zweite Blutprobe wurde, wie weiter oben beschrieben, durch Zusatz von Natriumzitratlösung am Gerinnen verhindert und kam im Institut zur kulturellen Verarbeitung. Die Untersuchung der Milchproben erfolgte bakterioskopisch sowie kulturell zum Nachweis von Galtstreptokokken bezw. Eiter.

Die so erzielten Befunde bei den 97 Rindern sind in folgender Uebersicht zusammengefaßt.

## Tabelle VII

| Lfd. Nr. | Rind Nr. | Klinische Untersuchung | Bang | Tuberkulose | | | Milch | Blutkultur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | i. k. Tb. Reakt. | Sputum mikroskopisch | Sputum Kultur | | |
| 1. | 604 | Ohne Befund | — | + | — | + | — | — |
| 2. | 551 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 3. | 577 | „ „ | + | + | — | — | — | — |
| 4. | 575 | „ „ | + | + | — | — | — | — |
| 5. | 489 | Bronchiales Atmen | — | + | — | — | Str. | — |
| 6. | 608 | Ohne Befund | + | + | — | — | — | — |
| 7. | 334 | Verschärftes Atmen | + | + | — | + | — | — |
| 8. | 585 | Ohne Befund | + | + | — | — | — | — |
| 9. | 595 | „ „ | — | ? | — | — | Str. | — |
| 10. | 586 | EitrigerAugenausfluß | + | + | — | — | — | — |
| 11. | 521 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 12. | 532 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 13. | 534 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 14. | 444 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 15. | 368 | Spontaner Husten | — | + | — | — | Str. | — |
| 16. | 501 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 17. | 467 | „ „ | — | + | + | — | — | — |
| 18. | 384 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 19. | 576 | „ „ | + | + | — | — | — | — |
| 20. | 578 | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 21. | 588 | Links giemende Atemgeräusche | — | + | — | — | Str. | |
| 22. | 434 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 23. | 522 | Verschärftes Atmen | — | + | — | — | Str. | — |
| 24. | 590 | Ohne Befund | + | + | — | — | Str. | — |
| 25. | 525 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 26. | 519 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 27. | 464 | Links giemende Atemgeräusche | — | + | — | + | Str. | — |
| 28. | 443 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 29. | 407 | „ „ | — | + | + | — | Pyog. | — |
| 30. | 597 | „ „ | | + | — | — | Str. | — |
| 31. | 498 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 32 | 448 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 33. | 425 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 34. | 597 | „ „ | + | ? | — | — | — | — |
| 35. | 514 | Verschärftes Atmen | — | + | | + | — | — |
| 36. | 536 | Ohne Befund | + | + | — | — | — | — |
| 37. | 510 | „ „ | + | + | — | — | — | — |
| 38. | 584 | „ „ | + | + | — | — | — | — |
| 39. | 413 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 40. | 587 | „ „ | + | + | — | — | — | — |
| 41. | 558 | Rechts verschärftes Atmen | — | + | — | — | Str. | — |
| 42. | 481 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 43. | 535 | „ „ | — | + | — | + | — | — |

| Lfd. Nr. | Rind Nr. | Klinische Untersuchung | Bang | Tuberkulose | | | Milch | Blutkultur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | i. k. Tb. Reakt. | Sputum | | | |
| | | | | | mikroskopisch | Kultur | | |
| 44. | 488 | Ohne Befund | — | + | — | + | — | — |
| 45. | 499 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 46. | 338 | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 47. | 530 | „ „ | + | + | — | — | Str. | — |
| 48. | Hitis 32 | „ „ | — | + | + | — | — | — |
| 49. | 353 | Verschärftes Atmen, Euter hart | — | + | + | — | Str. | — |
| 50. | 354 | Ohne Befund | — | — | — | — | Str. | — |
| 51. | 357 | „ „ | — | + | — | + | Str. | — |
| 52. | 372 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 53. | 389 | Lunge: Rassel- und Reibegeräusche | + | + | - | — | — | — |
| 54. | 392 | Ohne Befund | — | + | | — | Str. | — |
| 55. | 256 | Verschärftes Atmen | — | + | + | — | — | — |
| 56. | 278 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 57. | 283 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 58. | 286 | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 59. | 289 | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 60. | 299 | „ „ | — | + | - | + | — | — |
| 61. | 311 | Lunge: Rasselgeräusche | — | + | + | — | — | — |
| 62. | 314 | Ohne Befund | + | + | — | — | — | — |
| 63. | 316 | „ „ | — | — | — | — | Str. | — |
| 64. | 319 | „ „ | + | + | - | — | — | — |
| 65. | 243 | Lunge: Giemen und Rasseln | — | + | + | — | — | — |
| 66. | Lotte | Husten | — | + | — | + | — | — |
| 67. | Lia | Husten, Giemen | — | + | — | + | — | — |
| 68. | Alma | Verschärftes Atmen | — | + | — | + | — | — |
| 69. | Irma | Kehlgangslymphknoten geschwollen | — | + | — | + | — | — |
| 70. | Fina | Euter Knoten | — | + | — | + | — | — |
| 71. | Pudel | Ohne Befund | — | + | — | + | + | + |
| 72. | Emma | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 73. | Mara | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 74. | Paula | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 75. | Perle | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 76. | Lorle | Husten | — | + | + | — | — | — |
| 77. | Irrlicht | Ohne Befund | — | + | — | + | — | — |
| 78. | Rottraud2 | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 79. | Rottraud4 | Husten und Giemen | — | + | — | + | — | — |
| 80. | Sybille 1 | Ohne Befund | — | + | — | + | — | — |

| Lfd. Nr. | Rind Nr. | Klinische Untersuchung | Tuberkulose: Bang | Tuberkulose: i. k. Tb. Reakt. | Tuberkulose: Sputum mikroskopisch | Tuberkulose: Sputum Kultur | Milch | Blutkultur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 81. | Sybille 3 | Husten und Giemen | — | + | — | + | — | — |
| 82. | Flora 2 | Ohne Befund | — | + | — | + | — | — |
| 83. | Susanne 1 | „ „ | — | — | — | + | — | — |
| 84. | Renate 2 | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 85. | 246 | „ „ | — | + | — | + | Str. | — |
| 86. | 250 | „ „ | — | + | — | + | Str. | — |
| 87. | 277 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 88. | 293 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 89. | 295 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 90. | 216 | „ „ | — | + | — | + | — | — |
| 91. | 318 | Verschärftes Atmen | — | + | — | + | — | — |
| 92. | 279 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 93. | 295 | Bronchiales Atmen | — | + | — | — | Str. | — |
| 94. | 296 | Ohne Befund | — | + | — | — | Str. | — |
| 95. | 297 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 96. | 302 | „ „ | — | + | — | — | Str. | — |
| 97. | 298 | Verschärftes Atmen Kehlgangslymphknoten geschwollen | — | + | — | + | Str. | — |

**Zeichenerklärung:** + = positiv bezügl.
1. Bangінfektion
2. Tuberkulinreaktion
3. Tuberkelbakteriennachweis mikroskopisch und kulturell
4. Nachweis von Galtstreptokokken

— = negativ
? = fragliche Tuberkulinreaktion
Str. = Galtstreptokokken
i. k. Tb. Reak. = Intrakutane Tuberkulinreaktion

Die Tabelle zeigt zunächst, daß von den 97 Tieren 92 auf die intrakutane Tuberkulinreaktion positiv reagiert haben; bei 2 Rindern war die Reaktion zweifelhaft, in 3 Fällen ist die Reaktion negativ verlaufen. Bei einer Anzahl der Tiere bestand auch klinischer Verdacht der Tuberkulose. In 45 Fällen wurde die offene Lungentuberkulose durch den positiven Verlauf der mikroskopischen bezw. der kulturellen Untersuchung des Lungenschleims nachgewiesen. Dieser

Nachweis ging in den meisten Fällen nicht parallel mit den klinischen Feststellungen, d. h. der klinische Befund war sehr häufig negativ, trotzdem offene Lungentuberkulose vorlag. Mehrfach wurde umgekehrt der klinische Befund durch die bakteriologische Untersuchung nicht bestätigt. Die Tiere wurden auf polizeiliche Anordnung getötet und zeigten alle offene Lungentuberkulose, in keinem Fall jedoch diejenigen Verlaufsformen, die nach Nieberle beim Vorhandensein von Tuberkelbakterien in der Blutbahn so häufig gefunden werden. Bemerkenswert ist schließlich, daß bei einem Rind mit offener Lungentuberkulose die intrakutane Tuberkulinreaktion negativ ausgefallen ist.

Eine Bang-Infektion konnte bei 17 Tieren durch serologische Untersuchung der Blutproben ermittelt werden. Galtstreptokokken sowie mehr oder weniger vermehrter Zellgehalt wurden bei 45 Rindern nachgewiesen. Pyogenes-Infektion des Euters wurde bei einem Tier festgestellt. Vielfach litten die Tiere an 2 oder gar 3 Infektionen gleichzeitig.

Die kulturelle Untersuchung des Zitratblutes zum Nachweis von Tuberkelbakterien ist in allen 97 Fällen negativ verlaufen, obwohl sämtliche Proben sowohl unter Anwendung der Standardmethode als auch der Adsorptionsmethode nach Kovacs zur Untersuchung kamen. Im ganzen sind mit den 97 Proben 776 Nährbodenröhrchen geimpft worden. Die Kulturen blieben mit wenigen Ausnahmen steril, nur in einem Fall waren säurefeste Kokken mikroskopisch nachweisbar, und in mehreren anderen Röhrchen trat Schimmelbildung auf. Im übrigen konnte weder durch die makroskopische noch durch die in allen Fällen vorgenommene mikroskopische Untersuchung Tuberkelbakterienwachstum auf den Nährböden festgestellt werden.

In den 7 Beständen, aus denen die vorerwähnten 94 Blutproben stammten, wurden schließlich noch 150 weitere Rinder, die lediglich eine positive Tuberkulinreaktion zeigten, sowie 15 Tiere, bei denen keine der genannten Krankheiten nachgewiesen werden konnte und die auch auf die Tuberkulinprobe negativ reagierten, in die Untersuchung einbezogen. Alle 150 Blutproben wurden mit der Standardmethode auf Tuberkelbakterien untersucht. Bei 32 Proben wurde außerdem parallel die Adsorptionsmethode nach Kovacs angewandt. Insgesamt sind somit 788 Nährbodenröhrchen mit dem Material beimpft worden.

Auch diese Versuche verliefen völlig negativ. In keiner Probe waren Tuberkelbakterien nachzuweisen.

Insgesamt haben somit die Rinderversuche noch erheblich weniger positive Befunde gezeitigt als die Meerschweinchenversuche. Bei 362 untersuchten Rindern konnten nur in einem einzigen Falle Tuberkelbakterien im strömenden Blute nachgewiesen werden.

## C. Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche sollten zur Klärung der Frage der tuberkulösen Bakteriaemie bei Meerschweinchen und Rindern beitragen, zumal derartige Untersuchungen von tierärztlicher Seite im Verhältnis zu den sehr zahlreichen Arbeiten humanmedizinischer Untersucher bisher nur in verhältnismäßig geringem Umfange vorliegen. Die Untersuchungen haben zudem das von Löwenstein behauptete Vorkommen der Tuberkelbakteriaemie bei Tieren, die nicht tuberkulös erkrankt, sondern anderweitig infiziert sind, nicht berücksichtigt. Es erschien ferner von Interesse, die neuerdings von Kovacs angegebene Adsorptionsmethode, die bessere Resultate erzielen soll, mit der Löwenstein'schen Technik zu vergleichen.

In Vorversuchen wurde die zu befolgende Technik eingehend ausgearbeitet; die von mir hauptsächlich angewandte Methode unterschied sich von der Löwenstein'schen Technik durch Verwendung 10%iger Salzsäure anstelle von Schwefelsäure sowie durch Verimpfung der Proben auf den festen Eiernährboden nach Petragnani sowie die Nährbrühe nach Besredka. Diese Nährböden haben sich seit Jahren im Tierhygienischen Institut Freiburg auf Grund umfangreicher Beobachtungen für die Tuberkelbakterienzüchtung am besten bewährt.

Durch Vorversuche mit künstlich tuberkelbakterienhaltig gemachtem Normalblut wurde die Eignung der genannten Nährböden auch für den vorliegenden Zweck bewiesen. In jedem Falle konnten die Tuberkelbakterien aus den Blutproben herausgezüchtet werden. Sie bildeten, ebenso wie bei den positiv verlaufenden Hauptversuchen makroskopisch sichtbare Kolonien. In den negativ verlaufenden Hauptversuchen waren bei der stets vorgenommenen mikroskopischen Untersuchung der Nährböden auch nach 60 Tagen niemals Tuberkelbakterien nachzuweisen. Die weiteren Vor-

versuche haben gezeigt, daß die Vorbehandlung des Blutes mit 10%iger Natriumzitratlösung, mit destilliertem Wasser und mit 10%iger Salzsäure die Wachstumsfähigkeit der Tuberkelbakterien nicht beeinträchtigt.

In den Hauptversuchen kam zunächst das Blut von 325 tuberkulösen Meerschweinchen zur Verarbeitung und Verimpfung. Insgesamt wurden mit den Proben 1556 Nährbodenröhrchen beimpft. Im Blute von 10 Meerschweinchen konnten Tuberkelbakterien einwandfrei nachgewiesen werden. Die Identität der Erreger wurde durch Verimpfung von Kulturmaterial auf Meerschweinchen sichergestellt; letztere sind an Tuberkulose erkrankt und eingegangen. Außerdem konnten die Kulturen durch weitere Subkulturen fortgezüchtet werden und verhielten sich auch hierbei wie Tuberkelbakterienstämme. Die positiven Ergebnisse wurden sowohl mit dem festen wie mit dem flüssigen Nährboden in ungefähr gleicher Weise gewonnen. In Uebereinstimmung mit dem Ergebnis der Vorversuche hat das Adsorptionsverfahren in meinen Versuchen sich der Standardmethode nicht grundsätzlich überlegen gezeigt.

Die Versuche umfaßten fernerhin Blutproben von 362 Rindern. Von 47 Tieren kam das anläßlich der Schlachtung steril entnommene Herzblut zur Verarbeitung. Es war in allen Fällen negativ. Bei weiteren 47 Tieren, die sich durch die klinisch-bakteriologische Untersuchung als offentuberkulös erwiesen haben, wurden die Blutproben vor der Schlachtung aus der Jugularvene entnommen. Eine dieser Proben hat sich als tuberkelbakterienhaltig erwiesen. Der herausgezüchtete, anschließend auch in Subkulturen fortgeführte Stamm war meerschweinchenpathogen. Das Blut stammte von einer 5 Jahre alten Höhenfleckviehkuh mit tuberkulösem Primärherd in der Lunge und generalisierter, frisch verkäsender Tuberkulose in fast allen Organen.

In der Erwägung, daß die Tuberkelbakterien in den meisten Fällen vermutlich nur vorübergehend in der Blutbahn kreisen, wurden von 6 weiteren Kühen eine größere Anzahl Blutproben untersucht. Die Kühe erwiesen sich bei der klinisch-bakteriologischen Untersuchung als mit offener Lungentuberkulose behaftet. Innerhalb von 2 Tagen wurden bei ihnen in Zwischenräumen von wenigen Stunden in 2 Fällen 9 mal, in 2 Fällen 8 mal und in 2 Fällen 3 mal Blutproben aus der Drosselvene entnommen und verarbeitet. Die Versuche sind durchweg negativ verlaufen, ob-

wohl sich die Tiere bei der Schlachtung tatsächlich als mit offener Lungentuberkulose behaftet erwiesen.

Weiterhin kamen die Blutproben von 97 Rindern zur Untersuchung, die aus 7 größeren Beständen stammten, in denen sowohl Tuberkulose als auch Bruzellose sowie gelber Galt und Jungtierkrankheiten stationär sind. Die Tiere waren zum großen Teil mit 2 dieser Krankheiten gleichzeitig, z. T. auch mit 3 Infektionen gleichzeitig behaftet. Die kulturelle Blutuntersuchung hat bei ihnen in keinem Falle ein positives Ergebnis gezeitigt, obwohl die Proben sowohl nach der Standardmethode als auch nach dem Verfahren von Kovacs untersucht wurden.

Schließlich wurden in die Untersuchungen noch weitere 150 Rinder aus den genannten 7 Beständen einbezogen, die lediglich eine positive Tuberkulinreaktion zeigten, sowie 15 Tiere, bei denen keine der genannten Krankheiten nachgewiesen wurde, und die auch auf die Tuberkulinprobe negativ reagierten. Die Versuche verliefen völlig negativ, in keiner Probe waren Tuberkelbakterien nachzuweisen.

Durch die mit 2352 Einzelkulturen erzielten Ergebnisse haben die Behauptungen Löwensteins von dem häufigen Vorkommen der Tuberkelbakteriaemie bei tuberkulösen wie auch bei anderweitig erkrankten Individuen eine Stütze nicht erfahren. Die Ergebnisse stehen auch im Gegensatz zu den Befunden von Nieberle und Meyn, die bei gewissen Verlaufsformen der Tuberkulose im Blute sowie in der Muskulatur von Rindern Tuberkelbakterien mit ziemlicher Regelmäßigkeit nachweisen konnten. Die von mir untersuchten Rinder kamen fast durchweg in einem noch nicht vorgeschrittenen Stadium der Tuberkulose zur Schlachtung, und auch bei den nicht geschlachteten Versuchstieren bestand meist kein oder allenfalls nur geringgradiger klinischer Verdacht, sodaß die Ergebnisse von Nieberle und Meyn zu meinen Resultaten nicht in unlösbarem Widerspruch stehen, sondern erklärlich sind. Die genannten Autoren haben ihr Material nach ganz bestimmten Gesichtspunkten auf Grund des pathologisch-anatomischen Befundes ausgesucht, was bei meinen Untersuchungen nicht der Fall war.

## IV. Zusammenfassung.

1. Durch die kulturelle Untersuchung des Blutes von 325 tuberkulösen Meerschweinchen unter Verwendung der Nährböden nach Petragnani und Besredka konnten bei 10 Tieren Tuberkelbakterien in der Blutbahn nachgewiesen werden.

2. Die in gleicher Weise mit den Blutproben von 362 Rindern vorgenommenen Untersuchungen verliefen nur bei einer hochgradig tuberkulösen Kuh positiv. Es handelte sich z. T. um Rinder mit offener Tuberkulose, teils um Tiere mit Reaktionstuberkulose ohne klinischen Verdacht, z. T. um Rinder, die noch an anderweitigen Infektionen litten und zum geringsten Teil um Tiere, bei denen eine Krankheit nicht nachgewiesen werden konnte.

3. Die positiven Befunde wurden durch Uebertragung der Kulturen auf Meerschweinchen gesichert. In allen Fällen konnten die gefundenen Stämme auch in Subkulturen fortgeführt werden.

4. Die Adsorptionsmethode nach Kovacs hat keine besseren Ergebnisse als die etwas abgeänderte Methode nach Löwenstein gezeitigt.

5. Die Ergebnisse bestätigten die Behauptungen Löwensteins von dem überaus häufigen Vorkommen der Tuberkelbakteriaemie bei tuberkulösen wie auch bei anderweitig erkrankten Individuen nicht.

## V. Schriftverzeichnis.


1. Bacmeister und Rüben: Ueber „sekundäre" Tuberkulose. Dtsche. med. Wschr. (1912) II 2350, Münch. med. Wschr. (1913) Nr. 7.
2. Baumgarten: Zbl. med. Wissenschaft 42 (1883).
3. Bensis, Moutousis und Gouttas: Untersuchungen zur Isolierung der Tuberkelbakterien aus dem Blute nach Löwenstein und ihre klinische Bedeutung. Z. Hyg. 115, 663 (1933).
4. Besredka: Zit. nach Graf und Rupp.
5. Broll: Ueber das Vorkommen und den Nachweis von Tuberkelbakterien im strömenden Blute lungentuberkulöser Rinder. Berl. tierärztl. Wschr. 49, 908 (1909).
6. Busson: Die Hämolyse zum Nachweis von Mikroorganismen, insbesondere der Tuberkelbazillen im strömenden Blute, Zbl. Bakt. Orig. 124, 555 (1932).
7. Busson: Bemerkungen zum Tuberkelbazillennachweis aus dem Blute bei akutem Gelenkrheumatismus. Wien Klien. Wschr. 1931, S. 407.
8. Busson: Der Tuberkelbazillennachweis aus dem Blut durch Tierversuch und Kulturverfahren. Wien. Klin. Wschr. 1931, S. 1431.
9. Busson: Nachweis von Tuberkelbazillen mitels Hämolyseverfahrens. Wien. Klin. Wschr. 1932, S. 314.
10. Coronini: Ueber Fehlerquellen bei Tuberkelbazillenzüchtung, insbesondere bei Blutkulturen. Dtsche.med.Wschr. 23,1935,913.
11. Courmont: Rôle des bazillus „nus" de la tuberculose dans la bazillémie C. r. Soc. Biol. 114, 638 (1933).
11. Courmont: Recherches sur la bacillémie tuberkulose par la methode de Loewenstein. C. r. Soc. Biol. 114, 635 (1933). Ref. nach Zbl. für Bact. Ref. 114, 116 (1934).
12. Debré, Saenz und Proca: Zbl. Bakt. Ref. 115, 306.
13. Dehmel: Ueber die Technik der Tuberkelbakterienzüchtung und ihre Fehlerquellen als Ursache verschiedener Untersuchungsergebnisse. Zbl. Bakt. I. Orig. 130, 450 (1933).
14. Deist: Bacilluríe und Bacillämie bei Tuberkulose. Kl. Wschr. 1933, Nr. 26. Ref. Tierärztl. Rundschr. 1933, 399.
15. Eidherr: Reinzüchtung von Tuberkelbazillen aus Blut und Kot von Tieren. Wien. Tierärztl. Wschr. 1932, 385.
16. Ekhard: Tuberkelbazillämie nach Löwenstein bei den verschiedensten Tuberkuloseformen. Z. Tbk. 71, 31 (1934).
17. Fränkel: Tuberkelbazillen im strömenden Blut. Dtsche. med. Wschr. 1913 I, 737.
18. Graf: Der kulturelle Nachweis von Tuberkelbakterien für die

Diagnosestellung der offenen Tuberkulose im Rahmen des freiwilligen Tuberkulosetilgungsverfahrens mit den Nährböden nach Petragnani und Besredka. Diss. Gießen 1933.

19. Van der Hoeden: Het Kweeken van Tuberkelbazillen uit Bloed volgens Loewenstein. Verst. der Tuberc. Studie comm 5, 56 (1933).
20. Hohn: Der Eiernährboden zur Züchtung der Tuberkelbakterien. Zbl. Bakt. Orig. 127, 59 (1933).
21. Hohn: Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose. Zbl. Bakt. Orig. 98, 460 (1926).
22. Kalbfleisch, H. und Kalbfleisch, E.: Unsere Erfahrungen mit dem Tuberkelbazillenzüchtungsverfahren nach E. Löwenstein. Wien. Klin. Wschr. 1934, 939.
23. Kennerknecht: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbazillen im strömenden Blute bei Rindern. Beitr. Kl. Tbk. 23, 265 (1912).
24. Koch: Untersuchungen über den Nachweis von Tuberkelbazillen im strömenden Blut durch Kultur und Tierversuch. Dermat. Z. 68, 127 (1933).
25. Kolle und Küster: Ueber das Vorkommen der Tuberkelbazillen im strömenden Blute. Dtsch. med. Wschr. 1934, 309.
26. Kovacs: Beiträge zum Tuberkelbazillennachweis im Blut. I. Mitteilg. Zbl. Bakt. Orig. 134, 255 (1935). Zur Frage des Tuberkelbazillennachweises im Blut. II. Mitteilg. Zbl. Bakt. Orig. 135, 509 (1935).
27. Kren: Zur weiteren Kenntnis der Tuberkel-Bazillämie. Z. Tbk. 71, 26 (1934).
28. Küster und Olbrich: Beiträge zur Kritik der Löwensteinschen Methode des kulturellen Nachweises von Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blute. Z. Tbk. 70, 145 (1934).
29. Kurashige: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbazillen im strömenden Blut der Tuberkulösen. Z. Tbk. 17, 347 (1911) 18, 430 (1912).
30. Löwenstein: Vorlesungen über Tuberkulose (1920).
31. Derselbe: Ueber Septikämie bei Tuberkulose. Z. Tbk. 7, 491 (1905). 42, 177 (1925).
32. Derselbe: Beiträge zur Ätiologie der Nierentuberkulose. Wien. Kl. Wschr. 1925 II, 803.
33. Löwenstein: Die Methodik der Reinkultur von Tuberkelbazillen aus dem Blut. Dtsche. med. Wschr. 1930 I, 1010.
34. Derselbe: Die klinische Bedeutung der Tuberkelbazillämie. Münch. med. Wschr. 1930 II, 1662.
35. Derselbe: Die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blute. Zbl. Bakt. I Orig. 120, 127 (1931).
36. Derselbe: Vergleich der Leistungsfähigkeit von Tierversuch und und Kulturverfahren. Zbl. Bakt. Orig. 123, 510 (1932).
37. Derselbe: Züchtung von Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blut. Dtsche. med. Wschr. 1933.
38. Derselbe: Beitrag zur Bazillämie. Dtsche. med. Wschr. 1934, 871.

49. Lüdke: Ueber den Nachweis von Tuberkelbazillen im Blut bei der Lungentuberkulose. Wien. Klin. Wschr. 1906, II, 949.

40. Lustig: Ueber Tuberkelbazillen im Blute bei an allgemeiner akuter Miliartuberkulose Erkrankten. Wien. med. Wschr. 1884, 1149.

41 Meisel: Vorkommen von Tuberkelbazillen im Blut bei der allgemeinen akuten Miliartuberkulose. Wien. med. Wschr. 1884, 1149, 1187.

42. Meyn: Bakteriologische Ergänzungen zu den Ausführungen von Nieberle. Dtsche. Tierärztl. Wschr. 1936, 691.

43. Meyn, Breusch und Weiske: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbakterien im Blute tuberkulöser Tiere. Dtsche. Tierärztl. Wschr. 1934, 622.

44. Nieberle: Pathologische Anatomie und Pathogenese der Tuberkulose der Tiere. Ergebnisse der allgem. Pathologie und patholog. Anatomie des Menschen und der Tiere. 25, 631 (1931).

45. Derselbe: Die Tuberkulose der Haustiere. Zbl. Bakt., I. Orig. 127, 49 (1932).

46. Derselbe: Pathologische Anatomie und Pathogenese der Tuberkulose und ihre Bedeutung für die Fleischhygiene. Dtsche. Tierärztl. Wschr. 1936, 687.

47. Derselbe: Die Tuberkulose und ihre Bedeutung für die Nahrungsmittelkunde. Ztschr. Fleisch- und Milchhyg. 1934, 25.

48. Van Oyen: De methode Löwenstein tot het Kweeken van tuberkelbacillen uit bloed teogepast. by tieren. Tijdschr. Diergenesk 60, 809 (1933). Nederl. Tijdschr. Hyg. 8, 142 (1933). Ref. Zbl. Bakt. Ref. 112, 525 (1934).

49. Proca: Sur l 'hémoculture du Bacille tuberculeux. C. r. Soc. Biol. Paris 114, 1203 (1933); Ref. Z. B. Vet. Med. 55, 403 (1934).

50. Querner: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbazillen im strömenden Blut. Münch. med. Wschr. 1913 I, 401.

51. Räbiger: Weitere Untersuchungen über die Geflügeltuberkulose. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1928, 701.

52. Richters: Die Empfänglichkeit des Huhnes für humane und bovine Tuberkelbazillen. Z. Veterinärkunde 39, 161 (1927).

53, Rimpau: Das Vorkommen von Tuberkelbazillen im Blut nach Löwenstein. Münch. med. Wschr. 1935, 1345.

54. Rosenberg: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbazillen im strömenden Blute. Münch. med. Wschr. 1913 I, 404.

55. Rosetti: Ricerche sulla bacillemia tubercolare con la metodica di Löwenstein. Ref. nach Giorn. Batter. 11, 209 (1933); Zbl. Bakt. Ref. 114, 545 (1934).

56. Rudert, B.: Die diagnostische Brauchbarkeit des kulturellen Nachweises der Tuberkelbakterien. Diss. Leipzig 1934.

57. Rütimeyer: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbazillen im Blut und Milzsaft bei allgemeiner akuter Miliartuberkulose. Zbl. Med. 1885, 333.

58. Rupp; Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Nährböden für die Tuberkelbakterienkultur. Diss. Gießen 1933.

59. Saenz: Etudes sur la bacillémie tuberculeuse, Recherches expérimentales et cliniques. Anales de l' institut Pasteur 1934. 116, 645, nach Ref. Berl. Tierärztl. Wschr. 1935, 359, Ref. Zbl. Bakt. Ref. 115.

60. Seiffert: Zur Züchtung von Tuberkelbazillen aus dem strömenden Blut nach Löwenstein. Dtsche. med. Wschr. 1934. 1314.

61. Sickmüller: Zit nach Graf.

62. Silberschmidt: Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbakterien im Blute tuberkulöser Hühner. Diss. Leipzig 1931.

63. Sträubli: Beitrag zum Nachweis von Parasiten im Blut. Münch. med. Wschr. 1908 II, 2601.

64. Strempel: Ueber Tuberkelbazillämie bei Versuchstieren. Zbl. Bakt. I, Orig. 133, 159 (1935).

65. Sticker: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbazillen im Blute bei der akuten allgemeinen Miliartuberkulose. Zbl. Klin. Med. 1885, 441.

66. Sumiyoshi Yataro: Beitrag zur Reinzüchtung der Tuberkelbakterien aus Sputum. Zit. nach Löwenstein. Tbk. 39, 333 (1924).

67. Suzuku und Takaki: Nachweis von Tuberkelbazillen im Blut. Zbl. Bakt. Orig. 61, 152 (1912).

68. Tiedemann: Ergebnisse und kritische Betrachtungen über die Blutkultur von Tuberkelbazillen nach Löwenstein. Beitr. Kl. Tbk. 82, 703 (1933).

69. Tomescu: Beiträge zum Studium der Bazillämie nach der Löwenstein'schen Methode beim Hund. Ref. J. B. Vet. Med. 1933, 339.

70. Trautwein, K.: Das Kulturverfahren bei Nachweis und Erforschung der Tuberkulose. Berl. Tierärztl. Wschr. 1936, 680.

71. Verge et Sergent: La méthode de Löwenstein dans la diagnostic de la tuberkulose canine. C. r. Soc. Biol. 115, 847 (1934).

72. Villemin: Leçon sur la tuberculose. Bailliere 1867, zit. nach Silberschmid.

73. Witte, J.: Beitrag zur Züchtung von Tuberkelbakterien usw. Zschr. Inf. Kr. d. Haustiere 48, 14 (1935).

73 a. Derselbe: Weitere Beiträge zur Züchtung der Tuberkelbazillen usw. Zschr. f. Inf. Kr. d. Haustiere 50, 237 (1937).

74. Wolters: Zit. nach Graf.

## VI. Lebenslauf.

Am 7. Februar 1910 wurde ich als Sohn des verstorbenen Reichsbahninspektors Friedr. Gg. Weber und seiner Ehefrau Auguste geb. von Ow in Ettlingen geboren. Nach Besuch der ersten 4 Volksschulklassen in Konstanz und Offenburg war ich Schüler an den Gymnasien zu Offenburg und Karlsruhe, wo ich Ostern 1929 das Zeugnis der Reife erhielt. Ich widmete mich dann dem tierärztlichen Studium an der Universität Gießen sowie an den tierärztlichen Hochschulen Wien und Berlin, wo ich am 3. August 1934 die Prüfung ablegte und am 1. Oktober 1934 die Approbation erhielt. Darnach war ich als Assistent bei praktizierenden Tierärzten beschäftigt. Vom 1. Januar 1935 bis 31. Dezember 1936 war ich als Assistent am Tierhygienischen Institut Freiburg i. Br. angestellt, wo ich die Versuche für die vorliegende Dissertationsarbeit durchführte. Durch Erfüllung der Militärdienstpflicht und durch die Uebernahme einer Praxis im Januar 1937, insbesondere aber infolge starker Inanspruchnahme bei der Bekämpfung der Maul- und Klauenseuche wurde die Vorlage der Arbeit bis jetzt verzögert.